Onderzoek naar speciaal kweken

Rotterdam, 19 maart 2015

Mw. Jennifer Eeuwijk, MSc
Mw. Katrin Kochems, MSc
Mw. dr. Judith van den Bosch
Mw. drs. Dini Smilde-van den Doel
Pallas health research and consultancy
www.pallashrc.com

Een onderzoek in opdracht van het ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport

Pallas health research and consultancy
www.pallashrc.com
Tel. 010 - 447 44 49
Fax 010 - 447 44 50
Email info@pallashrc.com

Samenvatting

De Embryowet

Onderzoek met embryo's wordt sinds 2002 geregeld in de Embryowet.[1] De wet kent als algemeen uitgangspunt de menselijke waardigheid, en het beginsel van respect voor menselijk leven. Omdat andere waarden, zoals het welzijn van een toekomstig kind of het welzijn van onvruchtbare paren een inbreuk op het respect voor menselijk leven kunnen rechtvaardigen, formuleert de wet regels voor de terbeschikkingstelling van geslachtscellen en embryo's en geeft aan welke vormen van onderzoek hiermee niet toegestaan zijn. In de wet is bepaald dat het verboden is embryo's te maken anders dan voor een beoogde zwangerschap (artikel 24 onder a van de wet). Dit wordt ook wel aangeduid als het verbod op 'speciaal kweken'. Het verbod is niet permanent. Dit houdt in dat het niet is toegestaan om embryo's tot stand te brengen voor medisch-wetenschappelijk onderzoek, tenzij onder invloed van nieuwe ontwikkelingen anders wordt besloten.[2]

In 2012 is de Embryowet geëvalueerd en adviseerden de onderzoekers om het verbod op speciaal kweken op te heffen vanwege belemmeringen voor het medisch-wetenschappelijke onderzoek.[3] Er werd gewezen op de noodzaak van het speciaal tot stand brengen van embryo's voor preklinisch onderzoek, zodat nieuwe kunstmatige voortplantingstechnieken verantwoord in de kliniek geïntroduceerd kunnen worden. Nieuwe technieken die de onderzoekers destijds in het kader hiervan noemden, zijn in vitro maturatie van eicellen, celkerntransplantatie ter voorkoming van mitochondriale aandoeningen en mogelijke toekomstige reproductieve toepassing van uit stamcellen gekweekte geslachtscellen.

Naast onderzoek in de voortplantingsgeneeskunde kan ook in de transplantatiegeneeskunde en bij geneesmiddelenontwikkeling sprake zijn van speciaal voor onderzoek tot stand gebrachte embryo's. In deze vakgebieden vindt onderzoek plaats met uit embryo's verkregen stamcellen. Embryonale stamcellen kunnen uitgroeien tot een diversiteit aan celtypen, ze zijn pluripotent. Deze hoedanigheid maakt ze waardevol vanuit wetenschappelijk oogpunt, voor fundamenteel wetenschappelijk onderzoek en voor klinische toepassingen. De hoop is dat humane embryonale stamcellen uiteindelijk gebruikt kunnen worden om verstoorde celfunctie en beschadigde weefsels in het lichaam te herstellen. Ook kunnen de stamcellen gebruikt worden als ziektemodellen om ziektemechanismes in het lab te bestuderen. Een andere toepassing is het testen van nieuwe geneesmiddelen op cellijnen verkregen uit embryonale stamcellen. Humane embryonale stamcellen kunnen ook instrumenteel zijn bij het vergroten van kennis op het terrein van de ontwikkelingsbiologie.

Onderzoek naar medisch-wetenschappelijke ontwikkelingen

In een reactie op het evaluatierapport van de Embryowet sloot de minister van Volksgezondheid, Welzijn en Sport (VWS) het niet uit dat zich op enig moment medisch-wetenschappelijke ontwikkelingen kunnen voordoen die het speciaal kweken van embryo's kunnen rechtvaardigen. Uit het evaluatierapport van de Embryowet was volgens de minister niet eenduidig op te maken of er op dat moment al sprake was van zulke veelbelovende medische ontwikkelingen.[4]

Pallas health research and consultancy is door het ministerie van VWS gevraagd om een onderzoek te verrichten naar de vraag of medisch-wetenschappelijke ontwikkelingen in een zodanig stadium verkeren dat er een redelijke verwachting bestaat dat deze leiden tot relevante klinische toepassingen, als het speciaal kweken van embryo's anders dan voor zwangerschap wordt toegestaan. In dit onderzoek is in het bijzonder gelet op therapieën en technieken in de transplantatiegeneeskunde en voortplantingsgeneeskunde. Voor het beantwoorden van de onderzoeksvraag is onder andere in de wetenschappelijke literatuur en op websites van toonaangevende onderzoeksinstituten gezocht naar

[1] Tweede Kamer der Staten-Generaal, Wet houdende regels inzake handelingen met geslachtscellen en embryo's (Embryowet). Vergaderjaar 2000-2001.
[2] Ministerie van Volksgezondheid Welzijn en Sport (VWS), Standpunt op evaluatie Embryowet en Wet donorgegevens kunstmatige bevruchting. Juli 2013.
[3] ZonMw, Evaluatie Embryowet en Wet donorgegevens kunstmatige bevruchting September 2012.
[4] Ministerie van Volksgezondheid Welzijn en Sport (VWS), Standpunt op evaluatie Embryowet en Wet donorgegevens kunstmatige bevruchting. Juli 2013.

recente medisch-wetenschappelijke ontwikkelingen (wereldwijd) waarbij onderzoek plaatsvindt met humane embryo's of embryonale stamcellen. Aanvullend is met zeven deskundigen uit de transplantatiegeneeskunde en vijf deskundigen uit de voortplantingsgeneeskunde hierover gesproken. De deskundigen zijn afkomstig uit Nederland (acht) en een aantal uit het buitenland (vier). De informatie verzameld tijdens het onderzoek is samengevat in vier overzichtstabellen en per onderzoeksgebied in dit rapport beschreven (transplantatiegeneeskunde, voortplantingsgeneeskunde).

Ontwikkelingen in de transplantatiegeneeskunde

Therapieën en technieken met humane embryonale stamcellen

Binnen de transplantatiegeneeskunde kan een aantal ontwikkelingen met humane embryonale stamcellen als veelbelovend voor de komende jaren worden beschouwd, zoals therapieën voor verschillende typen maculadegeneratie (een oogaandoening waarbij het zicht ernstig wordt aangetast), diabetes mellitus type I, de ziekte van Parkinson en bij dwarslaesie. Het gaat om toepassingen gebaseerd op humane embryonale stamcellen waarvoor momenteel klinische studies met patiënten lopen of op zijn minst de komende jaren zijn gepland. Afhankelijk van de aandoening, worden termijnen van 5 tot 15 jaar genoemd waarbinnen deze ontwikkelingen tot klinische toepassingen zouden kunnen leiden, mits de studies positieve resultaten laten zien. Geneesmiddelenonderzoek waarbij ziektemodellen gebaseerd op embryonale stamcellen worden gebruikt, vindt momenteel plaats voor de ziekte van Alzheimer, ziekte van Parkinson en amyotrofische laterale sclerose (ALS).

De embryonale stamcellen die voor het medisch-wetenschappelijk onderzoek in de transplantatiegeneeskundige of bij geneesmiddelenontwikkeling worden gebruikt, zijn voor het merendeel afkomstig van restembryo's of cellijnbanken. Ook in Nederland wordt hiermee medisch-wetenschappelijk onderzoek gedaan. Slechts voor een klein deel van het onderzoek zijn de embryonale stamcellen afkomstig van speciaal voor het onderzoek gekweekte embryo's. Het gaat dan om fundamenteel onderzoek. Dergelijk onderzoek met speciaal gekweekte embryo's vindt niet in Nederland plaats.

iPSC als alternatief voor humane embryonale stamcellen

Stamcellen kunnen sinds 2008 ook gegenereerd worden via de Nobelprijswinnende techniek van de geïnduceerde pluripotente stamcellen (iPSC). Volwassen lichaamscellen (bijvoorbeeld huidcellen) worden in het laboratorium geherprogrammeerd tot pluripotente stamcellen. Ook deze stamcellen kunnen uitgroeien tot een diversiteit aan celtypen. Het voordeel van iPSC is dat het hiermee mogelijk is patiënt-specifieke cellijnen te creëren. Bij transplantatie van deze uit iPSC gegenereerde cellen is er geen risico op afstotingsreacties omdat de cellen genetisch identiek zijn aan die van de patiënt. Ook geneesmiddelen kunnen getest worden op patiënt-specifieke cellijnen, per patiënt kunnen zo de best werkende geneesmiddelen worden gezocht.

Op dit moment lopen er verscheidene studies met proefdieren en patiënten die op iPSC gebaseerde therapieën onderzoeken voor verschillende ziektes of erfelijke aandoeningen, zoals voor maculadegeneratie, hiv, ziekte van Parkinson, ALS, hart- en vaatziekten en spier-, lever- en huidziekten. Als de studies succesvol zijn en uitgegaan wordt van een ontwikkelingstijd vergelijkbaar aan die van geneesmiddelen, zijn gemiddeld binnen 10-15 jaar klinische toepassingen te verwachten.

Voor het verkrijgen van iPSC zijn geen embryo's nodig, de cellen zijn tenslotte afkomstig van volwassen lichaamscellen. Voor fundamenteel onderzoek naar iPSC worden naast iPSC ook humane embryonale stamcellen gebruikt, onder meer om celtypes gecreëerd uit iPSC te vergelijken met celtypes uit embryonale stamcellen. De voor het onderzoek gebruikte humane embryonale stamcellen kunnen afkomstig zijn van restembryo's, er hoeven geen embryo's voor te worden gekweekt. Onderzoek naar iPSC vindt ook in Nederland plaats.

Ontwikkelingen in de voortplantingsgeneeskunde

Kunstmatige voortplantingstechnieken

In de voortplantingsgeneeskunde vindt onderzoek met embryo's onder andere plaats om de huidige technieken voor kunstmatige voortplantingstechnieken zoals in vitro fertilisatie (IVF) te verbeteren. Er wordt onderzoek gedaan naar optimale kweekomstandigheden van embryo's, opslag van embryo's en manieren om de beoordeling van de embryokwaliteit te verbeteren. Onderzoek hiernaar vormt weinig risico voor het embryo en kan met restembryo's of tijdens bestaande IVF-behandelingen uitgevoerd worden.

Voor mensen met een kinderwens die niet over rijpe of geschikte geslachtscellen (eicellen of zaadcellen) beschikken kan geprobeerd worden rijpe geslachtscellen te verkrijgen die vervolgens gebruikt kunnen worden bij een IVF/ICSI-behandeling, zoals met chirurgische verkregen zaadcellen bij mannen via MESA/PESA of TESE en in vitro maturatie van eicellen bij vrouwen. MESA/PESA en TESE worden al in Nederland toegepast. In vitro maturatie van eicellen verkregen bij vrouwen die geen intensieve hormoonbehandeling verdragen is mogelijk en leidt tot succesvolle zwangerschappen. Veel minder succes wordt geboekt in onderzoeken waar geprobeerd wordt zwangerschappen tot stand te brengen uit onrijpe eicellen die ingevroren zijn geweest, bijvoorbeeld van (jonge) vrouwen die een kankerbehandeling ondergingen die hun vruchtbaarheid zou aantasten. Het is volgens de Nederlandse deskundigen ook denkbaar dat behandelingen op basis van ingevroren testis- of ovariumweefsel binnen een paar jaar worden aangeboden in Nederland. De Nederlandse deskundigen beschouwen het als een nadeel van het verbod op speciaal kweken dat de veiligheid van bepaalde voortplantingstechnieken niet uitvoeriger in het laboratorium getest kan worden. Onderzoek naar de ontwikkeling en rijping van geslachtscellen vraagt de bevruchting van een eicel om te onderzoeken of uit de geslachtscellen een gezond embryo kan voortkomen. Ook als men de veiligheid van nu (experimenteel) toegepaste technieken zoals TESE of in vitro maturatie van eicellen wil onderzoeken zullen speciaal voor onderzoek embryo's tot stand gebracht moeten worden.

Voor mensen die niet beschikken over geslachtscellen is het in theorie mogelijk geslachtscellen uit humane embryonale stamcellen of iPSC te genereren. Deze ontwikkeling verkeert echter in een vroeg stadium van onderzoek. Het is volgens deskundigen niet aannemelijk dat binnen 10-20 jaar een techniek voor patiënten beschikbaar is om uit stamcellen geslachtscellen te ontwikkelen. Als op termijn de veiligheid van uit stamcellen afkomstige geslachtscellen getest zou worden, is alleen via het speciaal kweken van embryo's te onderzoeken of met deze geslachtscellen gezonde embryo's kunnen ontstaan.

Voorkomen van erfelijke of aangeboren aandoeningen

In de voortplantingsgeneeskunde wordt ook gezocht naar manieren om het risico op erfelijke aandoeningen te verkleinen. Met pre-implantatie diagnostiek kan tijdens een IVF-behandeling een embryo onderzocht worden op afwijkingen voordat het wordt teruggeplaatst. Een recente ontwikkeling op dit terrein is 'next generation sequencing'.[5] Hierbij kan het hele of een groot deel van het genoom relatief snel en goedkoop onderzocht worden op afwijkingen. Binnen enkele jaren komt deze techniek ook beschikbaar in de voortplantingsgeneeskunde, maar deskundigen benadrukken dat voor die tijd over de bruikbaarheid van deze techniek nagedacht moet zijn.Als next generation sequencing niet gericht wordt toegepast, dat willen zeggen niet gericht op bekende genetische afwijkingen, maar breed zoekend naar mogelijke genetische afwijkingen, zal aan het merendeel van de embryo's iets op te merken zijn. Dit biedt echter geen zekerheid dat aandoeningen of ziekten daadwerkelijk tot ontwikkeling zullen komen. Het onderzoek naar next generation sequencing kan plaatsvinden met restembryo's.

Pre-implantatie diagnostiek biedt geen uitkomst voor het voorkomen van erfelijke mitochondriale ziekten. Deze zeldzame ziekten worden via de eicel doorgegeven van moeder op kind, de mitochondriën in de eicel (celcompartimenten die voor energievoorziening van de cel zorgen) hebben dan een genetische afwijking. Mitochondriën bevatten een kleine hoeveelheid DNA, dat alleen via de moeder wordt

[5] Gezondheidsraad. Next generation sequencing in diagnostiek. Den Haag: Gezondheidsraad, 2015; publicatienr. 2015/01.

doorgegeven. Een recente ontwikkeling voor het voorkomen van mitochondriale ziekten is mitochondriale donatie of vervanging. Bij dit proces wordt een eicel samengesteld uit een donor-eicel met gezonde mitochondriën waaruit de kern verwijderd is en de kern uit een eicel met afwijkende mitochondriën van de vrouw met kinderwens. De tot stand gebrachte eicel heeft geen mitochondriale afwijking. In het Verenigd Koninkrijk en de Verenigde Staten wordt onderzoek gedaan naar verschillende varianten van mitochondriale donatie. Onderzoek dat nagenoeg onmogelijk is zonder speciaal gekweekte embryo's. Een expertpanel in het Verenigd Koninkrijk gaf aan deze procedure 'niet onveilig' te vinden en 'potentieel nuttig'. In februari 2015 stemde het Britse parlement in met een wet die het toestaat de techniek uit te voeren.[6] Ongeacht de wetgeving in Nederland, menen de geraadpleegde Nederlandse deskundigen dat deze complexe techniek niet binnen enkele jaren aan Nederlandse patiënten aangeboden zal kunnen worden. Volgens de deskundigen is het niet nodig om fundamenteel onderzoek naar deze technieken in Nederland te laten plaatsvinden. Het onderzoek in het Verenigd Koninkrijk is van goede kwaliteit. Volgens de deskundigen is het wel denkbaar dat als er een gestandaardiseerde methode in het buitenland ontwikkeld is en men zou deze in Nederland willen introduceren, er een korte periode embryo's gekweekt zouden moeten worden om de vaardigheden aan te leren om deze techniek uit te voeren zodat de techniek veilig bij patiënten in Nederland toegepast kan worden.

Is in Nederland speciaal kweken een noodzakelijke voorwaarde voor klinische toepassing of verkrijgen van inzicht?

Een deel van het fundamenteel onderzoek dat verband houdt met de hiervoor beschreven ontwikkelingen kan onder de huidige wetgeving niet in Nederland uitgevoerd worden. Fundamenteel onderzoek in het vroege embryo is niet mogelijk, omdat restembryo's al meerdere dagen oud zijn en voorbij dit stadium. Door te bestuderen hoe de communicatie tussen cellen in het vroege embryo verloopt, kan kennis verkregen worden die onderzoekers in staat stelt om beter begrijpen wat de mogelijkheden van embryonale stamcellen of geïnduceerde stamcellen zijn. Een ander onderwerp is de stabiliteit van de cellen en de manier waarop genetisch materiaal in de cellen is opgeslagen. Beide onderwerpen zijn van belang voor het veilig gebruik van de stamcellen in de klinische praktijk.

Nederlandse onderzoekers ervaren niet zozeer een kennisachterstand vanwege het verbod op speciaal kweken. Nieuwe kennis, verkregen uit onderzoek met speciaal gekweekte embryo's, wordt internationaal gedeeld op congressen en via wetenschappelijke publicaties. Er kan echter wel een achterstand in vaardigheden optreden. In zijn algemeenheid geldt, los van het verbod op speciaal kweken, dat als technieken of behandelingen buiten Nederland worden ontwikkeld, Nederlandse clinici een periode nodig zullen hebben om deze nieuwe technieken of behandelingen onder de knie te krijgen. Om Nederlandse onderzoekers de mogelijkheid te geven vaardigheden op te doen voor bepaalde technieken kan in sommige gevallen het speciaal kweken van embryo's nodig zijn. Deze situatie zou bijvoorbeeld ontstaan als mitochondriale vervanging of donatie in Nederland toegepast zou kunnen worden.

[6] Bron: http://www.publications.parliament.uk/pa/cm201415/cmhansrd/cm150203/debtext/150203-0002.htm#15020348000001

Verklarende woordenlijst

Allogene therapie – Transplantatie van cellen, weefsel of orgaan van de ene patiënt naar de andere patiënt.

Aneuploïde – Bij een aneuploïde cel is sprake van een afwijkend aantal chromosomen. Een chromosoom is enkelvoudig of in drievoud aanwezig, in plaats van in tweevoud. Een bekend voorbeeld is trisomie 21, Downsyndroom; in de cellen is chromosoom 21 drie keer aanwezig.

Angioblast – Een angioblast is een embryonaal celtype waaruit zich de bloedvaten en bloedcellen ontwikkelen.

Autologe therapie – Therapie met bij een patiënt geoogste cellen die vervolgens worden teruggegeven aan dezelfde patiënt wordt "autoloog" genoemd - dat wil zeggen met cellen van de patiënt zelf.

Bètacellen – Bètacellen zijn cellen in de alvleesklier die insuline aanmaken. Ze zitten in groepjes bij elkaar, de zogenaamde eilandjes van Langerhans. Als na een maaltijd het bloedsuikerniveau in het bloed stijgt, reageren bètacellen binnen tien minuten met afgifte van opgeslagen insuline en aanmaak van nieuwe insuline. Bij diabetes type I vernietigt het afweersysteem van de patiënt de (meeste) eigen bètacellen. Het lichaam probeert wel nieuwe bètacellen te maken, maar die worden telkens opnieuw aangevallen door het afweersysteem. Daarom moeten mensen met diabetes type I insuline inspuiten.

Bevruchting – De versmelting van een mannelijke gameet (zaadcel) en een vrouwelijke gameet (eicel).

Binnenste celmassa – Het cluster van cellen in de blastocyst; het kan gebruikt worden om embryonale stamcellen te genereren.

Biomarker – Een biomarker is een chemische, fysische of biologische parameter die een indicatie geeft voor processen, zoals groei, ziekte, of het effect van een behandeling.

Blastocyst/Blastula – Stadium in de vroege embryonale ontwikkeling, bestaande uit ongeveer 150 cellen (embryonale stamcellen). De blastocyst is een bolvormige celmassa die ontstaat na celdelingen van de zygote (bevruchte eicel). Het bevat een met vloeistof gevulde holte, een cluster van cellen, genaamd de binnenste celmassa (waaruit alle cellen in het lichaam zich ontwikkelen), en een buitenlaag van cellen genaamd de trofoblast (die de placenta vormt).

Blastomeren – De verschillende cellen, ontstaan tijdens het klievingsstadium, worden blastomeren genoemd en vormen een compacte massa, genaamd de morula.

Celbank – In een celbank worden cellijnen, afkomstig van humane embryonale stamcellen of geïnduceerde pluripotente stamcellen, gemaakt en bewaard. Onderzoekers kunnen uit celbanken (tegen betaling) cellijnen verkrijgen.

Celcultuur – De groei van cellen in vitro in een kunstmatig medium, voor onderzoek of medische behandeling.

Cellijn(en) – Een cellijn is een verzameling gelijke cellen. Deze lijnen zijn het uiteindelijke product van een celcultuur.

Chimaera – Organisme bestaande uit cellen van verschillende soorten, zoals van twee diersoorten in één embryo.

Chromosoom – Structuur die bestaat uit DNA en regulerende eiwitten in de kern van de cel.
Het DNA in de kern is verdeeld over verschillende chromosomen. De mens heeft 46 chromosomen.

Compactie – Beschrijft het stadium tijdens de embryonale ontwikkeling op dag drie. In dit stadium wordt het 8-cellen grote embryo een compacte bal van cellen die een interactie met elkaar aangaan.

Comparative genomic hypridisation (CGH) – Bij CGH wordt een monster uit een eicel of uit een enkele cel uit een blastocyst vergeleken met een normaal controlemonster; de volledige set van 23 chromosomenparen kan zo geanalyseerd worden.

Cryopreservatie – Het bewaren van geslachtscellen of embryo's door invriezen.

Cytokinese – Cytokinese is de deling van het cytoplasma van een cel. Een proces dat tijdens de celdeling plaatsvindt. Aan het begin van de cytokinese bevindt zich in de twee verschillende polen van de cel een identieke hoeveelheid erfelijk materiaal. Ook de verschillende celorganellen zijn evenredig verdeeld tussen de twee polen. Het resultaat van de cytokinese is normaliter het ontstaan van twee identieke dochtercellen.

Differentiatie – Proces van verhoging van het niveau van organisatie of de complexiteit van cel of weefsel, gepaardgaand met een meer gespecialiseerde functie.

Diploïde – De bevruchte eicel en normale lichaamscellen zijn diploïde; ze bevatten één paar van elk chromosoom.

DNA-sequentie – Een stukje broncode van het DNA. Met de sequentie wordt in de biologie de volgorde van nucleotiden in een DNA-molecuul bedoeld.

Dopamine – Dopamine is een neurotransmitter. Dat wil zeggen dat het ervoor zorgt dat zenuwen met elkaar kunnen communiceren door signaalstoffen vrij te geven van de ene cel naar de andere zenuwcel. Dopamine is betrokken bij drie grote communicatieroutes in de hersenen. De eerste route is verantwoordelijk voor bewegingscontrole. De tweede route speelt een rol bij de planning van denkprocessen en bij doelgericht handelen. De derde route zorgt voor het regelen van emoties en motivaties. Dopamine is dus een belangrijke boodschapper. Een tekort, maar ook een teveel, van deze stof zorgt voor problemen.

Embryonale stamcellen – Ongedifferentieerde cellen, afkomstig van pre-implantatie-embryo's. Ze zijn pluripotent en kunnen uitgroeien tot een diversiteit aan celtypen.

Embryonale stamcellijn – Embryonale stamcellen die in vitro zijn gekweekt zijn en die maanden tot jaren de mogelijkheid hebben snel te vermenigvuldigen zonder te differentiëren.

Endoderm – De binnenste laag van de cellen afkomstig van de celmassa in de blastocyst; ze groeien uit tot longen, andere respiratoire structuren en tot spijsverteringsorganen.

Endotheel – Het endotheel is een bedekkend laagje aaneengesloten endotheelcellen dat de binnenkant van hart, bloedvaten en lymfevaten bedekt. Endotheel ontstaat uit de middelste laag van het embryonale kiemblad (het mesoderm).

Epigenetisch – Overerfbare manier van genregulatie. Heeft te maken met het proces waarbij regulerende eiwitten genen in- of uitschakelen op een wijze die overgedragen kan worden tijdens de celdeling. Dit is onafhankelijke van de genetische code is het DNA.

Epitheel – Het lichaam wordt bekleed door epitheel. Epitheelcellen sluiten met heel weinig intercellulaire stof op elkaar aan zodat er niet of nauwelijks moleculen *tussen de cellen* doorkunnen. Wel kunnen moleculen epitheelcellen passeren. Dan is sprake van actief transport door de epitheelcellen.

Euploïde – Een euploïde menselijke cel heeft de normale hoeveelheid chromosomen: 23 sets van 2 chromosomen.

Extracellulaire vesicels (EV) – Structuren (blaasjes) die door membranen omgeven zijn. Zij worden door cellen vrijgegeven, brengen specifieke signalen over naar andere cellen en spelen een belangrijke rol in de regulatie van celprocessen.

Gameten – Geslachtscellen (zaadcel en eicel).

Gen – Een gen is een afgebakend stuk DNA op een chromosoom, dat in de volgorde van nucleotiden de informatie bevat voor één of meer specifieke eiwitten. Het gen codeert voor het eiwit. Een eiwit kan een erfelijke eigenschap tot uiting brengen, zoals bloedgroep of haarkleur.

Genoom – De totale hoeveelheid DNA in een levend organisme. Bij mensen is het DNA over 23 chromosomen verdeeld.

Genotype – De genetische samenstelling van een individu met alle individuele variaties in het genoom.

Geïnduceerde pluripotente stamcel (iPSC) – Een geïnduceerde pluripotente stamcel is een gespecialiseerde volwassen cel (lichaamscel, zoals een huidcel) die via kunstmatige herprogrammering weer pluripotent is geworden. Een iPSC is vergelijkbaar met een embryonale stamcel.

Herprogrammering gebeurt door aan het DNA van een gespecialiseerde cel bepaalde regulatorgenen toe te voegen en tot expressie te brengen.

Haploïde – Geslachtscellen zijn haploïde. Dit betekent dat in de celkern één exemplaar van elk chromosoom aanwezig is.

Imprinting – Genomische imprinting is een genetisch fenomeen dat voor een klein percentage van de genen in het genoom een rol speelt. Het is een proces waardoor een bepaald allel van een gen alleen tot expressie komt (actief is) als het van één specifieke ouder (de vader óf de moeder) afkomstig is. Veel genen die gevoelig zijn voor genomische imprinting blijken betrokken zijn bij de groei van het embryo of de placenta. Sommige zijn betrokken bij de ontwikkeling van het jonge organisme na de geboorte.

Intracytoplasmatische sperma injectie (ICSI) – ICSI is het in het laboratorium injecteren van een zaadcel in een eicel om deze te bevruchten.

In vitro – In een laboratoriumschaal of reageerbuis; een kunstmatige omgeving.

In vitro fertilisatie (IVF) – Een voortplantingstechniek waarbij een of meer eicellen buiten het lichaam worden bevrucht met zaadcellen, waarna de ontstane embryo's in de baarmoeder teruggeplaatst worden.

In vitro maturatie (IVM) – Bij IVM worden onrijpe eicellen uit de eierstokken verwijderd. Ze worden in het laboratorium gerijpt voordat bevruchting kan plaatsvinden.

KLF2 – Een eiwit dat bij mensen gecodeerd wordt door het KLF2-gen op chromosoom 19.

Klievingsstadium – In dit stadium gaat de zygote delen. Er vindt geen groei plaats. Klieving is de celdeling in de vroege embryonale ontwikkeling van totipotente cellen en eindigt met de vorming van de blastula.

Klinische studie (trial) – Klinisch onderzoek waarin in een groep patiënten een nieuwe behandeling getest wordt.

Kwantitatieve polymerasekettingreactie (qPCR) – qPCR gebaseerd op PGS is een techniek gebaseerd op de analyse van aparte stukken van het genoom (‘genomic regions’), verspreid over alle chromosomen (alle 22 niet-geslacht chromosomen en de X- en Y-chromosomen).

Kweekmedium – De vloeistof die de cellen in een kweekschaaltje omvat. Het medium bevat voedingsstoffen om de cellen te voeden en te ondersteunen. In het kweekmedium kunnen eveneens groeifactoren toegevoegd worden om gewenste veranderingen in de cellen te genereren.

Maternal spindle transfer (MST) – Bij MST wordt DNA uit de nucleus (celkern) van een eicel van de patiënt met ongezonde mitochondria overgebracht in een eicel van een donor met gezonde mitochondria waaruit het nucleaire DNA van de donor is verwijderd.

Meiose – Proces van celdeling waarbij vier dochtercellen ieder de helft van het aantal chromosomen van een oudercel krijgen. Meiose vindt alleen plaats in geslachtsorganen van eukaryote organismen en leidt tot de productie van geslachtscellen.

Microchirurgische epididymale sperma-aspiratie (MESA) – Bij deze techniek worden via een chirurgisch ingreep rijpe zaadcellen uit de bijbal verkregen.

Mesoderm – Middenlaag van een groep van cellen afkomstig van de binnenste celmassa van de blastocyst; geeft aanleiding tot bot, spier, bindweefsel, nieren en verwante structuren.

Mitochondriaal DNA – Circulair DNA aanwezig in mitochondriën dat voor tien genen codeert en dat een belangrijke rol speelt in de celstofwisseling (‘power-house” van een cel).

Mitochondriën – Compartimenten in cellen die zorgen voor de energievoorziening van de cellen.

Monogene ziektes – Ziekte door afwijking in een enkel gen.

Motorneuronen – Bewegingszenuwcellen. Er zijn twee typen: alfa en gamma. Alfa-bewegingszenuwcellen zijn de grootste bewegingszenuwcellen. Zij ontspringen op de voorhoorn van het ruggenmerg en eindigen in het spierweefsel. Ze zorgen ervoor dat spieren samentrekken en dus dat

ledematen kunnen bewegen. Gamma-bewegingszenuwcellen bevinden zich dieper in de spieren en zorgen ervoor dat de spier op spanning blijft.

Morfologie – Een tak van de biologie die te maken heeft met de studie van de vorm en structuur van organismen en hun specifieke structurele kenmerken.

Morula – Klompje met 16 tot 32 cellen in de vroege embryonale ontwikkeling.

NANOG – Een eiwit dat bij mensen gecodeerd wordt door het NANOG-gen.

Natural Killer-cellen (NK-cellen) – Witte bloedcellen die in het afweersysteem van de mens de eerste verdediging vormen tegen vreemde indringers zoals tumoren, bacteriën en virussen. De NK-cellen herkennen Humaan Leukocytenantigeen (HLA)-eiwitten op het oppervlak van cellen. Als de NK-cellen de HLA-eiwitten als lichaamsvreemd beschouwen, scheiden de NK-cellen giftige stoffen (toxines) af om de vreemde cellen te doden.

Neuronen – Zenuwcellen, de belangrijkste functionele eenheden van het zenuwstelsel. Neuronen geven informatie aan andere neuronen of cellen door via het vrijgeven van signaalstoffen (neurotransmitters) aan de zenuwuiteinden (synapsen).

Next-generation sequencing (NGS) – NGS is een techniek die het mogelijk maakt grote delen van het genoom op afwijkingen te onderzoeken door de genetische code van het DNA zichtbaar te maken.

Oocyte – Eicel.

Percutane epididymale sperma-aspiratie (PESA) – Bij deze techniek worden via een chirurgisch ingreep rijpe zaadcellen verkregen uit de bijbal.

Pluripotent – Pluripotente cellen kunnen alle celtypen in het lichaam vormen, behalve het extra-embryonaal weefsel (placenta en vruchtvliezen). Embryonale stamcellen zijn pluripotent.

Polar bodytransfer – Er zijn twee transfertechnieken voor poollichaampjes. De eerste omvat het verwijderen van het eerste poollichaampje van een onbevruchte eicel; deze wordt overgedragen aan een onbevruchte eicel van een donor waarvan het nucleaire DNA is verwijderd. De tweede techniek omvat het verwijderen van het tweede poollichaampje na de bevruchting; deze wordt overgedragen aan een bevruchte eicel (zygote), waarvan het moeder-nucleair DNA verwijderd is.

Poollichaampje – Het poollichaampje is een structuur die ontstaat als de vroege eicel meiose ondergaat. In de eerste meiose verdeelt de eicel de chromosomen gelijkmatig tussen de twee cellen, maar het cytoplasma ongelijk. Eén cel behoudt het meeste cytoplasma, terwijl de andere cel bijna niets krijgt, waardoor deze erg klein blijft. Deze kleinere cel is het eerste poollichaampje. Het eerste poollichaampje degenereert meestal. De grotere cel (eicel) deelt zich opnieuw op een vergelijkbare wijze (tweede meiose), waarbij een grotere functionele eicel ontstaat en een tweede poollichaampje met de helft van de chromosomen en bijna geen cytoplasma.
Alleen de grote functionele eicel blijft over aan het einde van de meiose en kan bevrucht worden. Het tweede poollichaampje splitst zich af en blijft naast de bevruchte eicel totdat het degenereert.

Pre-implantatie embryo – Embryo voordat het geïmplanteerd is in de wand van de baarmoeder. Bij kunstmatige vruchtbaarheidstechnieken gaat het om een embryo tot stand gekomen in het laboratorium.

Pre-implantatie genetische diagnostiek (PGD) - Een techniek die gebruikt wordt voor het aantonen van bekende genetische aandoeningen bij embryo's die via IVF tot stand zijn gekomen. Het gaat om de controle van genen en/of chromosomen van embryo's. PGD kan gebruikt worden om voor vrijwel elke erfelijke aandoening te testen waarbij een specifiek gen bekend is welke de aandoening veroorzaakt.

Pre-implantatie genetische screening (PGS) – PGS (ook bekend als aneuploïdie screening) omvat het controleren van de chromosomen van embryo's die tot stand zijn gekomen door IVF op voorkomende afwijkingen.

Preklinische studie – Onderzoek dat voorafgaand aan een klinische studie wordt gedaan. Dit betreft in vivo onderzoek (dieren) en in vitro onderzoek (dier/menselijke cellen).

Proliferatie – Uitbreiding van het aantal cellen door de doorlopende deling van enkele cellen in twee identieke dochtercellen.

Pro-nulcear transfer (PNT) – Bij PNT wordt DNA uit de nucleus van een eicel van de patiënt met ongezonde mitochondria overgebracht in een eicel van een donor met gezonde mitochondria waaruit het nucleaire DNA van de donor is verwijderd.

PTEN – Een gen. Fungeert als een tumorsuppressie-gen door de productie van een eiwitproduct dat betrokken is bij de regulatie van de celcyclus; het voorkomt dat cellen te snel groeien en delen.

Somatic cell nuclear transfer (SCNT) – Een techniek die een ontkernde eicel en de kern van een volwassen lichaamscel (somatische celkern) combineert waaruit zich vervolgens een embryo kan ontwikkelen.

Therapeutisch klonen – Het via somatic cell nuclear transfer (SCNT) tot stand brengen van cellen die in genetische eigenschappen exact overeenkomen met die van een patiënt. Door de celkern van een volwassenen cel (somatische celkern) van een patiënt te combineren met een ontkernde eicel van een donor kan een embryo tot stand worden gebracht waaruit embryonale stamcellen verkregen kunnen worden met de genetische eigenschappen van de patiënt. Met de embryonale stamcellen kunnen weefsels gegenereerd worden die genetisch met de patiënt overeenkomen.

Reproductief klonen: Het via somatic cell nuclear transfer (SCNT) tot stand brengen van volwassen organisme (bijv. dier) dat genetisch identiek is aan het organisme (dier) waarvan de volwassen lichaamscel (somatische celkern) afkomstig was.

Somatische (volwassen) cellen – Alle cellen in het ontwikkelende of ontwikkeld organisme met uitzondering van kiemlijncellen.

Stamcel-gebaseerde therapie/en (regeneratieve geneeskunde) – Behandeling waarbij stamcellen geprogrammeerd worden om te differentiëren tot een specifiek celtype dat nodig is om beschadigde of vernietigde cellen of weefsels te repareren.

Telomerase – Een enzym dat de telomeren (chromosoomuiteinden) na een celdeling herstelt. Het enzym is actief in kankercellen; in gezonde volwassen lichaamscellen is het enzym zelden actief.

Telomeren – Een telomeer is een zich herhalend stuk DNA aan het uiteinde van elk chromosoom. Telomeren beschermen de genen die aan het eind van het chromosoom liggen tegen beschadigingen. Doordat er een telomeer aan het krimpende uiteinde zit, worden telkens wel alle genen gekopieerd. In plaats van genen, wordt het telomeer steeds korter. Zo kan een cel vaak (maar niet oneindig) delen zonder dat er genen beschadigd raken. Als de telomeer te kort wordt loopt het DNA van de chromosoom schade op. De cel kan zich niet meer delen, wordt oud en gaat dood.

Testiculaire sperma-extractie (TESA) – Bij deze techniek worden via een chirurgische ingreep jonge, onrijpe zaadcellen verkregen uit de zaadbal.

Time-lapsing – Een non-invasieve techniek waarbij tijdens de incubatie duizenden foto's worden gemaakt van het *in vitro* embryo om de kwalitatief beste embryo te selecteren voor een IVF-therapie.

Totipotent – Totipotent wil zeggen dat uit deze cel alle cellen van een organisme kunnen ontstaan, ook de callen van de extra-embryonale weefsels zoals de placenta en vruchtvliezen.

Trofoblast – De buitenste cellaag van de blastocyst. Deze cellaag is verantwoordelijk voor de implantatie en ontwikkelt zich in de extra-embryonale weefsels, inclusief de placenta, en regelt de uitwisseling van zuurstof en metabolieten tussen moeder en embryo.

Vitrificatie – Een methode voor het invriezen van eicellen/embryo's waarbij een hoge concentratie cryoprotectant (antivries) wordt gebruikt en de eicellen/embryo's zeer snel worden ingevroren. Er wordt voorkomen dat zich ijskristallen in de eicel vormen. Door vitrificatie kunnen eicellen voor langere periode kunnen bewaard worden.

Zelfvernieuwing – Stamcellen delen zonder differentiatie; dus de stamcelpopulatie wordt onderhouden en uitgebreid.

Zygote – Bevruchte eicel. Eerste stap in embryonale ontwikkeling.

Inhoud

1 Inleiding

1.1 Achtergrond

1.1.1 Embryowet

Onderzoek met embryo's wordt sinds 2002 geregeld in de Embryowet [1]. De wet kent als algemeen uitgangspunt de menselijke waardigheid, en het beginsel van respect voor menselijk leven. Omdat andere waarden, zoals het welzijn van een toekomstig kind of het welzijn van onvruchtbare paren een inbreuk op het respect voor menselijk leven kunnen rechtvaardigen, formuleert de wet regels voor de terbeschikkingstelling van geslachtscellen en van embryo's en geeft aan welke vormen van onderzoek hiermee verboden zijn. In de wet is bepaald dat het verboden is embryo's tot stand te brengen anders dan voor een beoogde zwangerschap (artikel 24 sub a van de wet). Dit wordt ook wel aangeduid als het verbod op 'speciaal kweken'. Het verbod is niet permanent. Dit houdt in dat het niet is toegestaan om embryo's tot stand te brengen voor medisch-wetenschappelijk onderzoek, tenzij onder invloed van nieuwe ontwikkelingen anders wordt besloten [2].

1.1.2 Toepassingsgebieden onderzoek met embryo's

In een in 2012 uitgevoerde evaluatie van de Embryowet [3] geven onderzoekers aan dat het verbod op speciaal kweken een belemmering vormt voor belangrijk medisch-wetenschappelijk onderzoek. Er werd gewezen op de noodzaak van het speciaal tot stand brengen van embryo's voor preklinisch onderzoek, zodat nieuwe voortplantingstechnieken verantwoord in de kliniek geïntroduceerd kunnen worden. Nieuwe technieken die de onderzoekers in de evaluatie noemden, zijn in vitro maturatie van eicellen, celkerntransplantatie ter voorkoming van mitochondriale aandoeningen en mogelijke toekomstige reproductieve toepassing van uit stamcellen gekweekte geslachtscellen.

Naast onderzoek in de voortplantingsgeneeskunde kan ook in de transplantatiegeneeskunde en bij geneesmiddelenontwikkeling sprake zijn van speciaal voor onderzoek tot stand gebrachte embryo's. In deze vakgebieden vindt onderzoek plaats met uit embryo's verkregen stamcellen. Embryonale stamcellen kunnen uitgroeien tot een diversiteit aan celtypen, ze zijn pluripotent (zie afbeelding II, p.20). Deze hoedanigheid maakt ze waardevol vanuit wetenschappelijk oogpunt, voor fundamenteel wetenschappelijk onderzoek en voor klinische toepassingen. De hoop is dat humane embryonale stamcellen uiteindelijk gebruikt kunnen worden om verstoorde celfunctie en beschadigde weefsels in het lichaam te herstellen. Ook kunnen de stamcellen gebruikt worden als ziektemodellen om ziektemechanismes in het lab te bestuderen. Een andere toepassing is het testen van nieuwe geneesmiddelen op cellijnen verkregen uit embryonale stamcellen. Humane embryonale stamcellen kunnen ook instrumenteel zijn bij het vergroten van kennis op het terrein van de ontwikkelingsbiologie.

Een andere manier om pluripotente cellen te genereren is via de recente, Nobelprijswinnende, techniek van geïnduceerde pluripotente stamcellen (induced pluripotent stem cells (iPSC)), waarbij volwassen lichaamscellen (bijvoorbeeld huidcellen) geherprogrammeerd worden tot pluripotente cellen (zie afbeelding IV, p.25). In de toekomst zou deze techniek het gebruik van humane embryonale stamcellen overbodig kunnen maken. Dergelijke cellen hebben vergelijkbare eigenschappen als embryonale stamcellen [4], ze kunnen uitgroeien tot een diversiteit aan celtypen.

1.1.3 Reactie minister op evaluatie

In een reactie op het evaluatierapport van de Embryowet sloot de minister van VWS het niet uit dat zich op enig moment medisch-wetenschappelijke ontwikkelingen voordoen die het speciaal kweken van embryo's rechtvaardigen. Een afweging ten aanzien van het verbod op speciaal kweken zou opnieuw gemaakt kunnen worden wanneer op het terrein van behandeling, diagnostiek of medische wetenschap belangrijke resultaten geboekt kunnen worden of nieuwe ontwikkelingen zich voordoen die niet op een andere wijze, dan door speciaal kweken van embryo's, mogelijk zijn, zoals wanneer het gaat om het welzijn van het toekomstige kind, genezing van ziekten of bevordering van de gezondheid van het kind

en het welzijn van mensen die onvruchtbaar zijn. Uit het evaluatierapport van de Embryowet was volgens de minister niet eenduidig op te maken of er op dat moment al sprake was van zulke veelbelovende medische ontwikkelingen [2].

1.2 Onderzoeksvragen

Het ministerie van VWS heeft aan Pallas gevraagd te onderzoeken of de medisch-wetenschappelijke ontwikkelingen op het gebied van transplantatiegeneeskunde en voortplantingsgeneeskunde in een zodanig stadium verkeren dat er een redelijke verwachting bestaat dat deze in de komende jaren tot relevante klinische toepassingen leiden, als het gebruik en de totstandbrenging van embryo's, anders dan voor zwangerschap, wordt toegestaan.

Hiertoe zijn de volgende deelvragen geformuleerd:

1. Wat is de huidige stand van de wetenschap voor wat betreft klinische toepassingen van onderzoek met embryo's
    a. Zijn er ontwikkelingen die mogelijk leiden tot nieuwe therapieën?
    b. Zijn er ontwikkelingen die mogelijk leiden tot nieuwe diagnostiek?
    c. Zijn er ontwikkelingen die mogelijk leiden tot verbetering van bestaande technieken?
2. Op welke termijn zouden bovengenoemde ontwikkelingen tot toepassing in de kliniek leiden?
3. Zijn er alternatieven voor het speciaal kweken van embryo's die tot vergelijkbare nieuwe diagnostiek of therapie zouden kunnen leiden?
    a. Wat zijn de voor- en/of nadelen van de alternatieve techniek ten opzichte van het gebruik van embryo's?
4. In hoeverre is het speciaal kweken van embryo's een noodzakelijke voorwaarde voor de beschikbaarheid in Nederland van nieuwe klinische toepassingen en/of medische wetenschappelijke inzichten die van belang zijn voor de ontwikkeling van diagnostiek of (nieuwe) therapieën?
    a. Kan er een kennisachterstand ontstaan die in de toekomst nadelig zou kunnen zijn c.q. belemmerend kan werken bij het in de kliniek brengen van elders ontwikkelde therapie of diagnostiek?
    b. Welke veelbelovende klinische toepassingen worden patiënten in Nederland onthouden wanneer het verbod voorlopig in stand wordt gehouden?

Bij de beantwoording van deze vragen is gelet op therapieën en technieken gebaseerd op humane embryonale stamcellen en geïnduceerde pluripotente stamcellen (transplantatiegeneeskunde) en (medisch-geassisteerde) voortplantingstechnieken en technieken voor therapie voor en diagnostiek van erfelijke of aangeboren aandoeningen (voortplantingsgeneeskunde).

1.3 Werkwijze bij het onderzoek

Om de vraagstellingen te beantwoorden, heeft Pallas langs twee lijnen onderzoek uitgevoerd:

1. Analyse van bestaande documentatie
   Voor een inventarisatie en analyse op hoofdlijnen van ontwikkelingen en toepassingen gebaseerd op onderzoek met embryo's en geslachtscellen en mogelijke alternatieven is gezocht in de wetenschappelijke literatuur, in conferentieabstracts, in klinische trialregisters en op de voor het onderzoeksveld belangrijkste websites.
2. Het raadplegen van deskundigen in binnen- en buitenland
   Uit Nederland zijn acht deskundigen bij het onderzoek betrokken en uit het buitenland vier (Spanje, Zweden en de Verenigde Staten). Deze deskundigen zijn werkzaam in twee toepassingsgebieden: zeven in de transplantatiegeneeskunde en vijf in de voortplantingsgeneeskunde. De deskundigen zijn individueel telefonisch geïnterviewd.

Het onderzoek is uitgevoerd van oktober 2014 tot en met februari 2015. Een uitgebreide beschrijving van de werkwijze is te vinden in Bijlage I, een overzicht van de geraadpleegde deskundigen in Bijlage II.

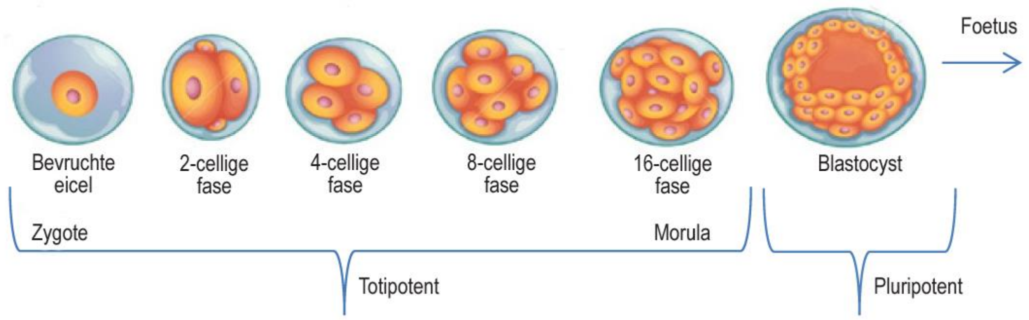
1.4 Leeswijzer

Dit rapport bestaat uit zes hoofdstukken. Hoofdstuk 2 beschrijft kort de menselijke embryonale ontwikkeling en het verkrijgen van embryonale stamcellen. De volgende drie hoofdstukken zijn ingedeeld naar de drie gebieden waarop het onderzoek zich richtte en zijn samengesteld uit informatie verkregen uit de analyse van bestaande documentatie en via het raadplegen van de deskundigen. In het rapport wordt met 'volgens de geraadpleegde deskundigen' verwezen naar uitspraken van deskundigen tijdens de interviews. Hoofdstuk 3 beschrijft recente ontwikkelingen in de transplantatiegeneeskunde (onderzoek gebaseerd op humane embryonale stamcellen (hESC) en geïnduceerde pluripotente stamcellen (iPSC)). In hoofdstuk 4 en 5 zijn ontwikkelingen beschreven op het gebied van de voortplantingsgeneeskunde. Hoofdstuk 4 gaat over kunstmatige voortplantingstechnieken en hoofdstuk 5 over therapieën en diagnostiek ter voorkoming van erfelijke/aangeboren aandoeningen. Hoofdstuk 6 gaat in op de kernelementen van de onderzoeksvragen voor elk van de onderzoeksgebieden met afsluitend een aantal overige overwegingen over het speciaal kweken als noodzakelijke voorwaarde in Nederland voor klinische toepassingen of het verkrijgen van inzichten. Gebruikte termen zijn uitgelegd in de verklarende woordenlijst in het begin van het rapport.

Een overzicht van de beschreven ontwikkelingen is ook weergegeven in vier tabellen. Ontwikkelingen in de transplantatiegeneeskunde in Overzichtstabel I (Therapieën en technieken gebaseerd op hESC) en Overzichtstabel II (Therapieën en technieken gebaseerd op iPSC). Ontwikkelingen in de voortplantingsgeneeskunde zijn weergegeven in Overzichtstabel III (Voortplantingsgeneeskunde – kunstmatige voortplantingstechnieken) en Overzichtstabel IV (Voortplantingsgeneeskunde – voorkomen van erfelijke/aangeboren aandoeningen).

2 Embryonale ontwikkeling en stamcellen

Voor een goed begrip van de bevindingen in het onderzoek met embryonale stamcellen wordt in dit hoofdstuk kort de menselijke embryonale ontwikkeling beschreven en hoe de bevruchting van een menselijke eicel buiten het lichaam kan plaatsvinden. Ook komt kort aan de orde hoe embryonale stamcellen worden verkregen.



Afbeelding I Embryonale ontwikkeling: Van bevruchting tot blastocyst. Totipotentie en pluripotentie.(Bron: gebaseerd op een afbeelding van de digitale mediabibliotheek 123RF- blueringmedia)

Menselijke embryonale ontwikkeling
Bij de bevruchting smelt de kern van een zaadcel met de kern van een eicel samen. De cel die ontstaat wordt een zygote genoemd [5]. In de fase van zygote tot aan de morula (klompje met 16 tot 32 cellen in de vroege embryonale ontwikkeling) zijn de cellen totipotent. Totipotent betekent dat uit deze cellen alle cellen die een organisme nodig heeft kunnen ontstaan, waaronder alle cellen waaruit het embryo zich ontwikkelt en de placenta en de vruchtvliezen.

De zygote gaat zich delen. De eerste dag na de bevruchting heeft de bevruchte cel zich gedeeld in twee cellen. Ongeveer 30 uur na de bevruchting zijn dit er vier geworden. Dit gaat zo door, om de twaalf tot vijftien uur verdubbelen de cellen zich. Deze celdeling in het vroege embryo wordt 'klieving' genoemd (klievingsstadium). Op dag drie van de embryonale ontwikkeling treedt de compactie op. In dit stadium wordt het 8-cellen grote embryo een compacte bal van cellen die een interactie met elkaar aangaan.

Ongeveer vier dagen na de bevruchting en na meerdere rondes van celdeling, beginnen de totipotente cellen zich te specialiseren waarbij ze een soort holte vormen, de blastocyst. De blastocyst bestaat uit een buitenste laag cellen, de trofoblast, met daarin de blastulaholte. De trofoblast groeit uit tot ondersteunende weefsels zoals placenta en vruchtvliezen. In de blastulaholte bevindt zich een celmassa, dit zijn de embryonale stamcellen. De embryonale stamcellen beginnen als naïeve pluripotente cellen ('ground state'); dit betekent dat deze cellen zich kunnen differentiëren tot alle celtypen in het lichaam. In een volgende fase zijn de cellen nog pluripotent maar bevinden zich in een toestand waarbij de cellen toch al enige voorkeur hebben ontwikkeld voor de richting waarin ze kunnen differentiëren [48].

Kunstmatige voortplantingsbehandelingen
Bij een IVF-behandeling vindt de bevruchting van een eicel plaats in het laboratorium. Bij een IVF-behandeling wordt één eicel met een grote hoeveel zaadcellen (ongeveer 100.000 per eicel) in een glazen schaaltje in het laboratorium samengebracht. Bij intracytoplasmatische sperma-injectie (ICSI) wordt één geselecteerde zaadcel in het plasma van de eicel geïnjecteerd [6].

Tijdens een kunstmatige voortplantingsbehandeling wordt het embryo op dag twee tot vijf teruggeplaatst in de baarmoeder van de vrouw [6].

Embryonale stamcellen
Uit embryo's in het blastocyststadium kunnen stamcellen verkregen worden. In de blastocyst bevinden zich ongeveer 100 embryonale stamcellen. Embryonale stamcellen zijn pluripotent, ze kunnen zich ontwikkelen tot alle celtypen in het lichaam, zoals spiercellen of zenuwcellen. Het proces tot differentiatie in specifieke celtypen kan in gang gezet worden door in de kweekschaal met stamcellen bepaalde stoffen toe te voegen. Voor elk celtype is een andere 'cocktail' van stoffen nodig.

De embryonale stamcellen kunnen als zogenaamde 'cellijnen' bewaard worden. Dat geeft onderzoekers de mogelijkheid om de cellen voor lange tijd te bewaren, zonder dat de pluripotente eigenschappen van de cellen verloren gaan. In een speciale 'cocktail' van stoffen kunnen de cellen wel delen, maar behouden ze hun pluripotente staat. Stamcellen uit stamcellijnen kunnen in een later stadium in het laboratorium gebruikt worden om verschillende typen cellen te kweken, zoals hartcellen of zenuwcellen.

3 Transplantatiegeneeskunde

In de huidige wetenschap worden verscheidene medisch-wetenschappelijke onderzoeken met embryo's uitgevoerd. Een deel van dit onderzoek gaat over de toepassing van stamcellen uit humane embryo's in de transplantatiegeneeskunde en bij de ontwikkeling van geneesmiddelen. Door de pluripotente eigenschap van embryonale stamcellen kunnen ze uitgroeien tot een diversiteit aan celtypen, zoals spiercellen of zenuwcellen (zie Afbeelding II). De verwachting is dat embryonale stamcellen nuttig kunnen zijn voor de behandeling van een groot aantal ziekten [4, 7]. Ook kunnen cellijnen met specifieke celtypes worden gecreëerd die toegepast kunnen worden als ziektemodel bij geneesmiddelenonderzoek.

Naast het onderzoek naar therapeutische toepassingen van embryonale stamcellen, wordt ook onderzoek gedaan voor het verkrijgen van basale kennis over stamcellen. Het bestuderen van bijvoorbeeld de communicatie tussen de cellen tijdens de embryonale ontwikkeling vanaf de zygote kan leiden tot een beter begrip van de mogelijkheden van pluripotente stamcellen. Een ander onderwerp van onderzoek is de regulatie van epigenetische factoren in een cel die meebepalen hoe stabiel een cel is of dat er veranderingen in de cel plaatsvinden die gevolgen hebben voor de cel. Fundamenteel onderzoek naar de achterliggende principes van pluripotentie is van belang voor het veilig gebruik van de stamcellen in de klinische praktijk.

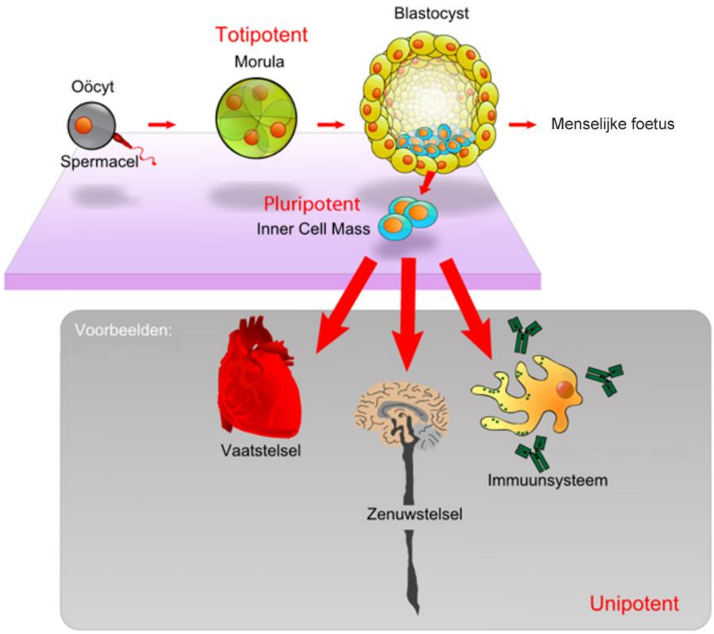
Sinds in 1998 is ontdekt hoe embryonale stamcellen uit humane embryo's verkregen kunnen worden, zijn vele cellijnen gemaakt [8]. Daardoor is het tegenwoordig voor veel onderzoekers niet meer noodzakelijk hun eigen cellijnen te produceren. Er zijn celbanken opgericht waar embryonale stamcellijnen bewaard worden, zoals de UK Stem Cell Bank (UKSCB) in het Verenigd Koninkrijk en de WiCell Stem Cell Bank (de voormalige U.S. National Stem Cell Bank) in de Verenigde Staten. Bij deze stamcelbanken kunnen hESC verkregen worden voor onderzoek. Celbanken geven onderzoekers toegang tot schaalbare, kosten-efficiënte en consistent hoogwaardige cellijnen.

Een andere manier om pluripotente stamcellen te genereren is via de in 2006 ontdekte techniek om uit willekeurige volwassen lichaamscellen nieuwe cellen te creëren met de eigenschappen van stamcellen [9]. Deze cellen worden geïnduceerde pluripotente stamcellen (induced pluripotent stem cells (iPSC)) genoemd omdat ze door een in vitro behandeling pluripotent zijn gemaakt (voor een uitgebreide beschrijving zie paragraaf 3.2). De ontdekking van iPSC maakt het gebruik van embryonale stamcellen in de toekomst mogelijk overbodig. In veel laboratoria worden hESC en iPSC naast elkaar onderzocht, onder andere om goed te begrijpen wat de eigenschappen van beide cellen zijn. Ook bij de ontwikkeling van diverse celtypes voor therapieën vindt onderzoek plaats met iPSC en hESC om te bepalen of beide type stamcellen geschikt zijn voor klinische toepassingen [10].

Dit hoofdstuk biedt een beschrijving van de belangrijkste wetenschappelijke ontwikkelingen van onderzoek met stamcellen verkregen uit embryo's dat mogelijk tot klinische toepassingen leidt.

- Paragraaf 3.1 beschrijft de ontwikkelingen op het gebied van therapieën en technieken met humane embryonale stamcellen: therapieën gebaseerd op hESC in paragraaf 3.1.1, hESC-ziektemodellen in 3.1.2, de mogelijkheden van therapeutisch klonen in 3.1.3 en het gebruik van dieren voor het kweken van organen in 3.1.4.
- Paragraaf 3.2 geeft een overzicht van de ontwikkelingen op het gebied van therapieën met geïnduceerde pluripotente stamcellen: onderzoek naar de werking van iPSC wordt besproken in paragraaf 3.2.1, patiënt-specifieke cellijnen in 3.2.2, therapieën gebaseerd op iPSC in 3.2.3 en de nadelen van iPSC ten opzichte van hESC in 3.2.4.

Een overzicht van de beschreven ontwikkelingen zijn ook weergegeven in Overzichtstabel I (Therapieën en technieken gebaseerd op hESC, p.45) en Overzichtstabel II (Therapieën en technieken gebaseerd op iPS-cellen, p. 50).



Afbeelding II Een eicel wordt bevrucht door een zaadcel. Er ontstaat een zygote, een totipotente cel. Totipotent wil zeggen dat uit deze cel alle cellen die een organisme nodig heeft, kunnen ontstaan. Wanneer deze zygote zich gaat delen, ontstaat de blastocyst: een hol balletje met daarin ESC. Onderzoekers kunnen deze stamcellen verwijderen en uit laten groeien tot uiteenlopende cellen en weefsels. Afbeelding: Mike Jones (Bron: Wikimedia Commons).

3.1 Therapieën en technieken gebaseerd op hESC

Onderzoek met humane embryonale stamcellen (hESC) biedt de transplantatiegeneeskunde uitzicht op nieuwe mogelijkheden voor behandeling van ziekten en aandoeningen. In veel gevallen zijn dit ziekten en aandoeningen waarbij getransplanteerde, uit stamcellen ontwikkelde cellen de functie van beschadigde organen of weefsels zouden kunnen herstellen. Een andere toepassing van embryonale stamcellen is het hiermee in vitro ontwikkelen van weefsels waarop onderzoek kan plaatsvinden, bijvoorbeeld voor het testen van nieuwe geneesmiddelen [11-13].

Veel fundamenteel onderzoek naar hESC heeft zich gericht op de factoren en condities die ervoor zorgen dat cellen differentiëren in bepaalde celtypes. Om veilig gebruik te kunnen maken van op hESC gebaseerde therapieën is het noodzakelijk dat goed wordt begrepen hoe de cellen werken en hoe ze op een goede manier gemanipuleerd kunnen worden zodat de cellen veilig gebruikt kunnen worden als bron voor klinische toepassingen [7].

3.1.1 Therapieën gebaseerd op hESC

Op dit moment is er een aantal klinische toepassingen gebaseerd op hESC die getest wordt (op mens of dier) en die in de nabije toekomst tot therapieën zou kunnen leiden. Hieronder volgt hiervan een overzicht. Bij het merendeel van deze ontwikkelingen wordt gebruikgemaakt van hES-cellijnen, voor zover bekend uit stamcellen van restembryo's. Omdat voor dit onderzoek gebruikgemaakt kan worden van bestaande cellijnen of restembryo's, is dit type onderzoek mogelijk in Nederland.

Een klein aantal ontwikkelingen, therapieën voor oogaandoeningen, diabetes mellitus type I en de ziekte van Parkinson, wordt in de wetenschappelijke literatuur en door de geraadpleegde deskundigen veelbelovend genoemd voor de komende jaren. Afhankelijk van de aandoening, worden termijnen van vijf tot vijftien jaar genoemd waarbinnen deze ontwikkelingen tot klinische toepassingen zouden kunnen

leiden, mits de studies positieve resultaten laten zien. Niet elke genoemde studie zal daadwerkelijk leiden tot klinische toepassingen in de kliniek.

Oogaandoeningen

Bij maculadegeneratie wordt de macula, het centrale gedeelte van het netvlies, aangetast. Dit leidt tot vermindering van het zicht. Er zijn verschillende typen van maculadegeneratie, zoals leeftijdsgebonden (droge/natte/myope maculadegeneratie) en erfelijke (Stargardt maculadystrofie). Therapie met retina-epitheel, dekcellen van het netvlies, ontwikkeld uit hESC uit cellijnen is een veelbelovende ontwikkeling om beschadigde retinacellen te vervangen door functionerende cellen. Op dit moment wordt in zes verschillende klinische studies (fase I/II) getest of sub-retinale transplantatie met retinaal pigmentepitheel-cellen afkomstig van hESC (MA09-hRPE) het zicht van patiënten met droge leeftijdsgebonden maculadegeneratie [14-16], natte leeftijdsgebonden maculadegeneratie [17], myope maculadegeneratie [18] en Stargardt maculadystrofie [15, 19] kan herstellen. Uit de eerste resultaten blijkt bij meer dan de helft van de patiënten verbetering van het zicht op te treden zonder dat er ernstige bijwerkingen optreden [20]. Een volgende fase in de ontwikkeling van deze toepassing is het uitvoeren van klinische studies met grotere groepen patiënten. Voor zover bekend zijn deze onderzoeken nog niet gepland.
Therapie voor oogaandoeningen met cellen afkomstig uit stamcellen is vergeleken met therapie voor aandoeningen in andere organen minder gecompliceerd, onder andere omdat het oog een afgesloten ruimte is en in het oog immuunreacties minder sterk zijn [7].

Diabetes mellitus type I

Veelbelovend voor de behandeling van diabetes mellitus type I is de ontwikkeling van bètacellen (β-cellen) uit hESC afkomstig uit cellijnen. Bij diabetes type I maken de bètacellen in de alvleesklier onvoldoende insuline aan door afbraak van deze bètacellen. In veel gevallen gaat het om destructie door cellen van het eigen immuunsysteem en is diabetes mellitus type I een auto-immuunziekte [21]. Recent zijn therapieën ontwikkeld waarbij in het laboratorium insuline-producerende bètacellen worden gekweekt uit humane embryonale stamcellen. Studies naar deze therapieën zijn in een vergevorderd stadium. De insuline-producerende bètacellen kunnen in het laboratorium gegenereerd worden zonder genetische modificatie en in grote aantallen. Belangrijke onderzoeken worden gedaan door het onderzoeksteam van Doug Melton in de Verenigde Staten [22] en twee commerciëlen bedrijven, ViaCyte [23] en BetaLogics [24]. In augustus 2014 ontving ViaCyte goedkeuring van de Food and Drug Administration (FDA; Verenigde Staten) om een fase I/II klinische studie te beginnen; de preklinische studies van het team van Doug Melton zijn bijna afgerond.

Deskundigen hebben er veel vertrouwen in dat voor diabetes mellitus type I bètacellen verkregen uit stamcellen de oplossing zijn. Als de bètacellen goed werken, is de volgende stap in het onderzoek om de cellen op een goede manier in het lichaam te brengen en te houden, zonder dat er storende immuunreacties, zoals afstoting van de cellen, optreden. Er wordt geëxperimenteerd met een methode om de cellen ingekapseld in het lichaam te plaatsen om afstotingsreacties te voorkomen. Volgens deskundigen zou er binnen vijf jaar een op hESC gebaseerde werkzame therapie voor diabetes mellitus type I kunnen zijn.

Ziekte van Parkinson

Bij de ziekte van Parkinson is er een sterke afname van zenuwcellen in de hersenen die verantwoordelijk zijn voor de aanmaak van dopamine [25]. Mogelijk kan de ziekte worden behandeld met uit hESC-lijnen afkomstige neuronen die dopamine produceren. In studies met proefdieren blijven deze dopamine-producerende neuronen goed functioneren [26] en zijn de cellen in staat schade veroorzaakt door de ziekte van Parkinson te herstellen [27]. De verwachting is dat in 2015 en 2017 de eerste klinische studies bij patiënten met Parkinson kunnen starten.

Dwarslaesie

Bij een dwarslaesie zijn zenuwbanen in het ruggenmerg onderbroken waardoor uitval van de zenuwen, na de onderbreking ontstaat. Bij sommige patiënten met een dwarslaesie zijn de zenuwen nog intact, maar is het omhulsel van myeline om de zenuwcellen heen beschadigd waardoor zenuwsignalen niet

kunnen worden doorgegeven. Een therapie met oligodendrocyt-voorloperscellen, gegenereerd uit hESC, zou mogelijk kunnen helpen deze omhulsels te herstellen zodat zenuwsignalen weer overgedragen kunnen worden. In een klinische studie fase I zal in 2015 de veiligheid van een therapie met uit hESC afgeleide oligodendrocyt-voorlopercellen getest worden bij dertien patiënten met een complete dwarslaesie [28, 29]. Deze studie is een vervolg op een in 2010 gestaakte studie waarin slechts een lage dosis oligodendrocyt-voorlopercellen kon worden gebruikt [30]. Bij het kleine aantal geïncludeerde proefpersonen zijn geen negatieve effecten van de therapie gevonden [30]. In de vervolgstudie wordt hetzelfde type cellen gebruikt, maar in een tien keer hogere dosis. Als de therapie veilig blijkt, kunnen er klinische studies volgen met grotere groepen patiënten om het effect van de behandeling te testen.

Doofheid

Doofheid wordt bij veel patiënten veroorzaakt door het niet of slecht functioneren van haarcellen en auditieve neuronen in het oor [31]. In een preklinische studie in dieren (woestijnratten) is een hESC-gemedieerde reparatie van het binnenoor getest [32]. Onderzoekers ontwikkelden een gestandaardiseerde methode voor het in gang zetten van de differentiatie van hESC (uit cellijnen) naar otische placodecellen (waaruit het gehoor- en evenwichtsorgaan zich ontwikkelen). Hierbij verkregen ze twee typen otische voorloopcellen met de mogelijkheid zich in het laboratorium te differentiëren naar haarcel-achtige cellen en auditieve neuronen, beide met naar verwachting elektrofysiologische eigenschappen waardoor auditieve signalen naar de hersenen verstuurd kunnen worden.

Cardiovasculaire ziekten

Preklinische studies hebben aangetoond dat de architectuur van het hart te complex is om in het laboratorium te ontwikkelen [33]. Het is wel mogelijk vanuit hESC hartcellen te kweken die kunnen samentrekken zoals cellen in het hart [34]. Echter, LUMC-hoogleraar Mummery slaagde er tot 2008 niet in om de schade van een hartinfarct bij een muis te herstellen met uit stamcellen gekweekte hartcellen [33].
In een nieuwe en lopende fase I klinische studie wordt de veiligheid en verdraagbaarheid van transplantatie met ‘cardiac-committed’ voorlopercellen (progenitors) afkomstig van hESC (bron van de embryonale stamcellen niet bekend) getest [35]. In de studie wordt een nieuwe manier van transplantatie van de cellen onderzocht bij patiënten met ernstig hartfalen. De onderzoekers hebben er vertrouwen in dat hun methode wel in staat zal zijn om schade aan het hart te herstellen. In 2016 worden resultaten van deze studie verwacht.

Leverziekten

Uit hESC gekweekte levercellen zouden een toepassing kunnen krijgen voor het herstel van de functie van de lever bij leverfalen of andere leverziekten. Het is onderzoekers gelukt om in een in vitro-studie uit hESC (bron van de embryonale stamcellen niet bekend) levercellen te kweken. De gekweekte levercellen gedragen zich in vitro zoals levercellen in het menselijk lichaam, ze scheiden eiwitten uit die nodig zijn voor het transport van moleculen en de vorming van nieuw weefsel [36].

Kanker

Onderzoek vindt plaats naar een niet-patiënt-specifiek (allogeen) kankervaccin, ontwikkeld uit hESC uit cellijnen, om het immuunsysteem van de patiënt te stimuleren het enzym telomerase te bestrijden [37, 38]. Telomerase herstelt de telomeren (de chromosoomuiteinden) na een celdeling. Als dit niet gebeurt, worden de telomeren bij elke deling korter, tot een grens wordt bereikt en de cel niet meer in staat is om te delen. In gezonde volwassen lichaamscellen is het enzym zelden actief, maar in kankercellen geven mutaties reactivering van telomerase en kan de cel oneindig vaak blijven delen. Door telomerase te bestrijden worden alleen kankercellen bestreden [39]. Een klinische studie fase I/II [40] is gepland binnen twee jaar (geschat voor eind 2016) te starten om de veiligheid, toxiciteit en toepasbaarheid van het vaccin te onderzoeken bij patiënten met geopereerd vroegstadium longkanker en patiënten met vergevorderde stadia van longkanker.

3.1.2 Ziektemodellen voor verschillende ziekten/aandoeningen

Volgens deskundigen is er grote potentie voor ziektemodellen van cellen gebaseerd op hESC. Deze ziektemodellen kunnen gebruikt worden om in het laboratorium ziektemechanismen te bestuderen. Aan

de hand daarvan kunnen geneesmiddelen ontwikkeld worden en worden getest op deze ziektemodellen. Er zijn in de afgelopen jaren cellijnen gecreëerd voor verschillende stamcelbanken, bijvoorbeeld de Medical Research Council (MRC) stamcelbank in het Verenigd Koninkrijk. Deze stamcellijnen worden gebruikt voor ontwikkeling van geneesmiddelen voor bijvoorbeeld de ziekte van Parkinson [41]. Andere ziekten of aandoeningen waarvoor geneesmiddelenonderzoek plaatsvindt waarbij hESC-ziektemodellen worden gebruikt zijn de ziekte van Alzheimer, diabetes mellitus, amyotrofische laterale sclerose (ALS) en erfelijke (mono-genetische) aandoeningen [10-12, 40]. Ook in Nederland vindt onderzoek met geneesmiddelen plaats op celtypes gekweekt uit hESC. Een onderzoeksgroep van het RIVM onderzocht de ontwikkeling van een methode om embryonale stamcellen te gebruiken om de toxiciteit van geneesmiddelen te testen [42].

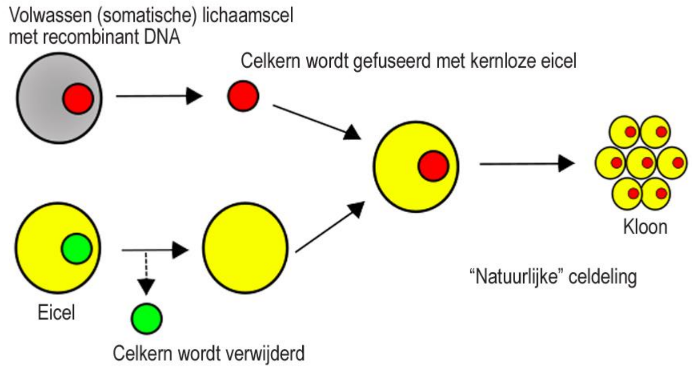
3.1.3 Somatic nuclear transfer of therapeutisch klonen

Via ‘somatic cell nuclear transfer’ (SCNT) kunnen in theorie patiënt-specifieke stamcellen gecreëerd worden; dit wordt therapeutisch klonen genoemd. Patiënt-specifieke stamcellen hebben als voordeel dat er bij een transplantatie geen afstoting plaatsvindt en dat geneesmiddelen op de individuele patiënt toegepast zouden kunnen worden. Bij SCNT wordt een celkern van een volwassen lichaamscel (somatische cel) getransplanteerd in een eicel zonder celkern (zie Afbeelding III), welke na stimulatie begint te delen. Het embryo (de kloon) dat ontstaat is een genetisch identieke nakomeling van de donor van de lichaamscel. Uit de blastocyst kunnen embryonale stamcellen worden verkregen, net zoals bij een embryo tot stand gekomen na bevruchting van een eicel door een zaadcel. Therapeutisch klonen heeft enkel als doel embryonale stamcellen te verkrijgen, niet om een nieuw individu te creëren [7]. In Nederland is de techniek niet toegestaan.

In het laboratorium blijkt het erg moeilijk om via SCNT menselijke embryo’s te creëren. Veel pogingen mislukken, waardoor er voor het onderzoek veel eicellen nodig zijn. Enkele belangrijke epigenetische en genetische problemen bij klonen zijn na jaren van onderzoek nog niet opgelost. Bij SCNT vinden niet de celdelingen plaats die bij de vorming van geslachtscellen plaatsvinden waardoor ze haploïde worden (met in de celkern één exemplaar van elk chromosoom). Bij de samensmelting van de eicel en zaadcel vinden opnieuw processen plaats die niet plaatsvinden als een celkern van een volwassen lichaamscel in een eicel wordt gebracht. Embryo’s verkregen door SCNT zijn daardoor niet vergelijkbaar met normale embryo’s en ook de stamcellen verkregen via SCNT zijn niet vergelijkbaar met embryonale stamcellen verkregen uit een bevruchte eicel [7].

In een recent artikel (gepubliceerd in 2014) beschrijven onderzoekers echter hoe via SCNT een stamcellijn is gecreëerd van een patiënt met diabetes mellitus type I, waarbij deze cellen vervolgens zijn doorontwikkeld tot insuline-producerende bètacellen [43]. In de toekomst zou dit zich tot patiënt-specifieke celtherapie voor diabetes mellitus type I of andere ziektes of aandoeningen kunnen ontwikkelen. Deze studie en een andere recente studie [44] geven inzicht in de fundamentele aspecten van humane SCNT en herbevestigen deze ontwikkeling als een therapeutisch hulpmiddel [45]. Voor het genereren van hESC via SCNT is echter meer onderzoek nodig, zo zouden onderzoekers bijvoorbeeld nog technieken kunnen ontwikkelen om de meest geschikte eicel voor SCNT te vinden zodat de succeskans van de techniek toeneemt [45].

De geraadpleegde deskundigen menen dat therapeutisch klonen weinig toekomst heeft, mede door boven genoemde problemen (epigenetische en genetische). Het toepassen van SCNT kan volgens hen wel inzicht geven in embryonale ontwikkelingen en pluripotentie van cellen.



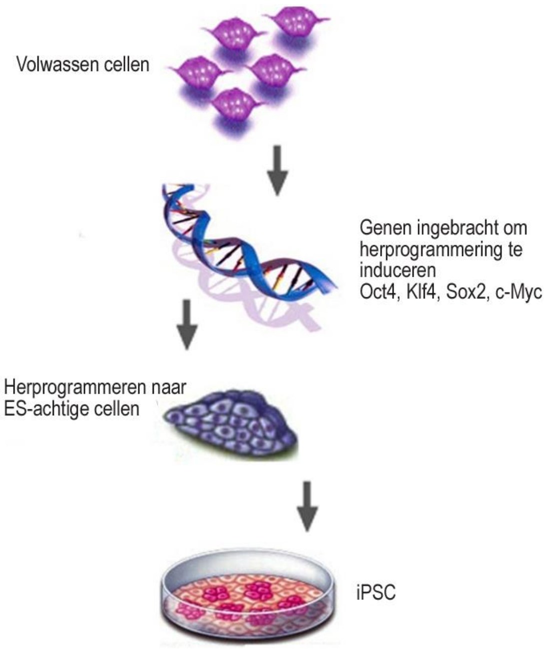
Afbeelding III. Somatic cell nuclear transfer. Afbeelding: Dr. Juergen Groth (Bron: Wikipedia)

3.1.4 Organen gekweekt met behulp van chimaera

Volgens de geraadpleegde deskundigen is het in vitro kweken van complexe organen de komende jaren niet mogelijk (zie paragraaf 3.1.1). Een andere mogelijkheid is het kweken van organen met behulp van chimaera [46]. In Nederland, en veel andere landen, is het verboden om een embryo te creëren uit humane cellen en dierlijke cellen (tot stand brengen van een chimeer); in landen zoals Japan en het Verenigd Koninkrijk wordt wel met deze ontwikkeling geëxperimenteerd. In theorie kunnen in een varkensembryo menselijke stamcellen worden ingespoten die geprogrammeerd zijn om bijvoorbeeld alvleesklier te worden en op deze manier kunnen uitgroeien tot een menselijk alvleesklier in een varken [7]. Volgens de geraadpleegde deskundigen is het een interessant onderzoeksgebied met potentie voor de toekomst. De deskundigen menen dat onderzoek in dieren al veelbelovend is gebleken. Met muizen en ratten (in het ene dier ontwikkeld zich een orgaan van het andere dier) is al veel ervaring met deze techniek opgedaan, ook in Nederland. De eerste studies in varkens laten zien dat het mogelijk is om een orgaan van het ene varken te laten groeien in het andere varken [46]. Transplantaties met organen die op deze manier gekweekt zouden worden, hebben mogelijk een lager afstotingsrisico dan bij huidige transplantaties het geval is. Vanuit een puur technisch oogpunt gezien, is de grootste uitdaging het combineren van menselijke en dierlijke cellen in één levensvatbaar embryo [46].

3.2 Therapieën en technieken gebaseerd op iPSC

Veelbelovend is de Nobelprijswinnende techniek van geïnduceerde pluripotente stamcellen (iPSC) [47]. Hierbij worden volwassen lichaamscellen geprogrammeerd tot pluripotente cellen, die zich in theorie nog tot alle verschillende celtypen van het lichaam kunnen ontwikkelen (zie Afbeelding IV). Het herprogrammeringsproces bevat het toevoegen van vier genen ('Yamanaka factors': Oct3/4, Sox2, c-Myc, en Klf4) aan de volwassen lichaamscellen. Verder is het mogelijk om deze iPSC in een speciaal kweekmedium met voedingsstoffen en groeifactoren terug te laten differentiëren tot volwassen cellen (het type kweekmedium is afhankelijk van het soort cellen die gedifferentieerd zullen worden). Het stelt onderzoekers in staat om patiënt-specifieke cellijnen te creëren die onderzocht en gebruikt kunnen worden voor regeneratieve geneeskunde en geneesmiddelenonderzoek [48]. Deze patiënt-specifieke cellijnen hebben onder andere als voordeel dat er celtherapieën met eigen cellen ontwikkeld kunnen worden zodat er geen afstotingsreactie optreedt. Ook kan er per patiënt naar de efficiëntste geneesmiddelen worden gezocht. iPSC zijn een alternatief voor embryonale stamcellen.



Afbeelding IV: iPS-cellen (Bron: Meregalli et al., 2011).

3.2.1 Onderzoek naar werking iPSC

Sinds de ontdekking van de iPSC is door veel onderzoeksgroepen onderzoek gedaan naar de perfecte iPSC en hoe verschillende celtypes gemaakt kunnen worden. In de afgelopen jaren zijn verscheidene nieuwe technieken ontwikkeld die het herprogrammeringsproces van iPSC zouden kunnen verbeteren. Een zeer recente ontwikkeling is het 'terugbrengen' van pluripotente stamcellen ontstaan uit volwassen gespecialiseerde cellen tot oorspronkelijke 'ground-state' pluripotente humane cellen [49].

3.2.2 Patiënt-/ziekte-specifieke iPS-cellijnen

Meerdere onderzoeksgroepen hebben patiënt-specifieke iPSC gekweekt. Veel van het onderzoek bevindt zich in een preklinische of in vitro-fase. Enkele voorbeelden van nieuwe celtypes die uit iPSC zijn gemaakt: voorlopers van geslachtscellen [50], cardiomyocyten (hartspiercellen) voor patiënten met artritis met cardiovasculaire complicaties [51], humane insuline-producerende bètacellen voor diabetes mellitus type I [22], een humaan iPSC-model afgeleid van patiënten met insulineresistentie voor patiënten met diabetes mellitus type II [52] en osteoblasten (botcellen) voor patiënten met skeletaandoeningen [53]. Het is, volgens deskundigen, moeilijk in te schatten op welke termijn deze ontwikkelingen als therapie in de kliniek toegepast zouden kunnen worden.

IPSC worden ook gebruikt om ziektemodellen te maken, bijvoorbeeld om de pathogenese van een ziekte te onderzoeken, om genetische markers te identificeren betrokken bij ziekten of om meer inzicht te krijgen in genetische en cellulaire verschillen in cellen en het voorkomen van genetische mutaties [54-65]. IPSC-ziektemodellen kunnen ook gebruikt worden om inzicht te geven in de werking van geneesmiddelen, zoals voor het testen van geneesmiddelen voor de behandeling van Retinitis pigmentosa, een oogaandoening waarbij de fotoreceptoren (kegels en staafjes) en het onderliggend pigmentepitheel is aangedaan [64]. Ook in Nederland vindt dit type onderzoek plaats, bijvoorbeeld naar geneesmiddelen voor hartziekten [66]. Het voordeel van de iPSC is dat er veilig op de cellijnen getest kan worden, zonder dat daarbij mensen of dieren risico's lopen. In de Verenigde Staten produceerden onderzoekers recent twintig ziekte-specifieke iPS-cellijnen, onder andere voor de ziekte van Parkinson, ziekte van Huntington en diabetes mellitus type I, die waardevol zijn voor het onderzoeken van de diepere oorzaken van de ziekten en voor het testen van nieuwe geneesmiddelen [67].

Doordat iPSC, net als hESC, onder goede omstandigheden lang bewaard kunnen worden en hun delend vermogen behouden, zijn ze geschikt om in celbanken te bewaren. Er zijn verschillende stamcelbanken met iPSC ontwikkeld. Het doel van de banken is om cellijnen van hoge kwaliteit en relevant voor onderzoek te maken en te bewaren. Celbanken geven onderzoekers toegang tot schaalbare, kosten-

efficiënte en consistent hoogwaardige iPS-cellijnen. Een voorbeeld is de grote Europese publiek-private samenwerking (European Bank for Induced Pluripotent Stem Cells (EBiSC)) voor de academische en farmaceutische sector. Het doel van de bank is om voor 2016 1.000 cellijnen te produceren [68]. In de Verenigde Staten is een Alzheimer iPSC-bank opgericht als onderdeel van een Alzheimer onderzoekcenter (UCI ADRC) [69].

Het creëren van patiënt-specifieke cellijnen kan ook via therapeutisch klonen (somatische celkerntransplantatie, zie paragraaf 3.1.3) tot stand komen [43]. Deskundigen geven aan dat door de ontdekking van iPSC de wens om te stamcellen te creëren via therapeutisch klonen er bijna niet meer is. Patiënt-specifiek onderzoek kan nu met iPSC worden gedaan, dat is een belangrijk voordeel van iPSC. Er kunnen bijvoorbeeld cellijnen worden gemaakt van patiënten met genetisch afwijkingen. Hoewel de genetische instabiliteit van iPSC nog onderwerp van onderzoek is, wordt het gebruik van iPSC voor patiënt-specifieke celtherapie gezien als een goed alternatief. Er zijn geen eicellen nodig en er hoeven geen embryo's te worden gecreëerd, zoals bij therapeutisch klonen het geval is.

3.2.3 Mogelijke toekomstige klinische toepassingen van iPSC

Op dit moment lopen er verscheidene studies die op iPSC gebaseerde therapieën onderzoeken voor verschillende ziektes en erfelijke aandoeningen. Hieronder staan de belangrijkste recente ontwikkelingen met iPSC die gericht zijn op het ontwikkelen van een therapie. De genoemde voorbeelden bevinden zich in een preklinische fase (studies in vitro en in diermodellen) of klinische studie fase I. Dit betekent dat als de studies succesvol zijn en we uitgaan van een ontwikkelingstijd als van geneesmiddelen, klinische toepassingen gemiddeld binnen 10-15 jaar hun weg kunnen vinden naar de kliniek. Net als bij geneesmiddelenontwikkeling zal een meerderheid van de studies niet direct leiden tot een daadwerkelijke toepassing in de kliniek.

Oogaandoeningen

Bij maculadegeneratie wordt de macula, het centrale gedeelte van het netvlies, aangetast (zie paragraaf 3.1.1). Het is onderzoekers gelukt om uit iPSC patiënt-specifiek retinaal pigmentepitheel (RPE)-cellen, cellen van het netvlies van het oog, te maken die gebruikt kunnen worden voor de behandeling van blindheid door maculadegeneratie. In een fase I klinische studie in Japan [70] wordt momenteel de veiligheid en haalbaarheid van deze techniek onderzocht bij patiënten met natte leeftijdsgebonden maculadegeneratie. De fase I klinische studie, gestart in 2013, is de eerste klinische studie gebaseerd op iPSC die op mensen getest wordt en loopt tot en met 2017. De deskundigen zien behandeling van maculadegeneratie als één van de meest veelbelovende ontwikkelingen met iPSC; deze ontwikkeling zou volgens hen in vijf tot tien jaar tot klinische toepassing kunnen leiden.

Neurodegeneratieve aandoeningen

Er zijn verschillende onderzoeken waarbij wordt geprobeerd om uit iPSC dopamine-producerende neuronen te kweken. In 2016 begint een fase I klinische studie [71] waarbij patiënten met de ziekte van Parkinson behandeld worden met voorlopers van dopamine-produceerde neuronen. De voorlopers van deze neuronen zullen in de hersenen van de patiënten geïmplanteerd worden. In een andere studie zijn als ziektemodel motorneuronen (zenuwcellen verantwoordelijk voor beweging) gebruikt die gekweekt zijn uit iPSC van ALS-patiënten. Dit model is gebruikt om de potentiële werking van anti-epilepsiemedicatie bij ALS te testen [72]. Een volgende stap is om te testen hoe ALS-patiënten reageren op het medicijn.

Cardiovasculaire ziekten

Verscheidene studies hebben de functionaliteit van uit iPSC afgeleide vasculaire endotheliale cellen aangetoond, in vitro en in vivo in diermodellen (preklinische studies) [73-76]. Endotheliale cellen vormen endotheel cellen. Endotheel bekleedt onder meer de binnenkant van het hart en de bloedvaten. In 2013 publiceerden onderzoekers de resultaten van een studie waarin het was gelukt om bloedvaten te maken van iPSC, afgeleid van huidcellen van gezonde volwassenen en van patiënten met diabetes mellitus type I. Om de bloedvaten te testen zijn deze geïmplanteerd op het oppervlak van de hersenen van muizen. De werkende bloedvaten konden negen maanden overleven [77]. Klinische studies zijn, voor zover uit de geraadpleegde documentatie bleek, nog niet goedgekeurd.

Verschillende soorten tumoren

Tumor targeted natural killer (NK)-cellen afgeleid van iPSC zouden een cel-gebaseerde gen/immunotherapie kunnen vormen voor patiënten met tumoren. NK-cellen zijn grote lymfocyten die behoren tot het niet-specifieke immuunsysteem en zijn continu bezig lichaamsvreemde cellen op te sporen en te vernietigen [78]. NK-cellen gegenereerd uit iPSC zouden tumorgroei kunnen vertragen. De uit iPSC gekweekte NK-cellen zijn in muizen getest. Resultaten gepubliceerd in 2014 laten zien dat de tumorgroei aanzienlijk is vertraagd in muizen die met de NK-cellen zijn behandeld [79]. Op basis van de geraadpleegde documentatie is het onbekend of voor deze ontwikkelingen klinische studies zijn gepland.

Spierdystrofie

Gezonde mesoangioblasten kunnen cellen vormen om skeletspierweefsel te herstellen, bijvoorbeeld bij spierdystrofie waarbij de spieren ernstig verzwakt zijn. Mesoangioblast (MAB)-cellen, afgeleid van iPSC, zouden als therapie kunnen dienen voor patiënten met spierdystrofie. Uit een preklinische studie, gepubliceerd in 2014, blijkt dat met deze cellen geïnjecteerde muizen meer spierkracht hebben, in staat zijn om meer te doen en normale spiereiwitten produceren [34]. Klinische studies zijn, voor zover bekend op basis van de geraadpleegde documentatie, nog niet gepland.

Genetische leverziekte

Patiënten met α1-antitrypsine eiwittekort (A1ATD) hebben een genetische leverziekte waar levertransplantatie de enige mogelijke therapie is. Onderzoekers publiceerden in 2011 de resultaten van een preklinische studie waarin is geprobeerd om humane iPSC genetisch te corrigeren, zodat de structuur en functie van het A1ATD-eiwit verantwoordelijk voor de genetische leverziekte hersteld werd. Daarna zijn functionerende levercellen uit deze iPSC gemaakt en deze zijn in vitro en in vivo (diermodellen) getest. Deze ontwikkeling is het eerste bewijs dat het mogelijk is om iPSC met een genetische correctie te creëren, om cellen te genereren voor patiënt-specifieke celtherapie [80].

Huidziekte

Drie verschillende onderzoeksteams publiceerden in 2014 over belangrijke voortgang (in vitro en in vivo (diermodellen)) om patiënten met epidermolysis bullosa te behandelen [81-83]. Epidermolysis bullosa is een ernstige huidziekte waarbij de verschillende huidlagen niet op elkaar aansluiten, waardoor ernstige blaren en ontvellingen ontstaan [84]. In de onderzoeken zijn uit huidcellen van de patiënten iPSC gemaakt. Twee onderzoeksgroepen corrigeerden het genetisch defect in de iPSC en kweekten uit deze cellen vervolgens gezonde huid [81, 82]. De gezondheid van de huid werd getest door de huid te transplanteren naar muizen [81, 82]. De derde onderzoeksgroep ging uit van huidcellen waarin de genmutatie spontaan gecorrigeerd was (‘revertant mosaïcisme’ of ‘natural gene therapy’) en kweekte daaruit iPSC [83]. Uit de studies blijkt dat het juiste recept nog niet is gevonden voor de productie van humane huidcellen die langer leven dan een paar weken.

HIV

Om patiënten met hiv te genezen wordt onderzoek gedaan naar een therapie waarbij iPSC een mutatie ondergaan, waardoor hiv zich niet aan de cellen kan hechten [85]. De onderzoekers gebruiken een methode waarbij ze een deel van een DNA-sequentie (een stukje broncode van het DNA) verwijderen en daarna vervangen met een nieuwe sequentie, die gebaseerd is op de genetische code van individuen die resistent zijn voor hiv. De eerste resultaten (gepubliceerd in 2014) van de in vitro studie wijzen erop dat deze methode efficiënt zou kunnen zijn; monocytcellen (bloedcellen) gebaseerd op iPSC waren resistent tegen hiv [85].

3.2.4 Nadelen iPSC

IPSC zijn geen perfecte stamcellen. Over de hele wereld zoeken verschillende onderzoeksgroepen naar de ‘naïeve geïnduceerde pluripotente stamcel’ of ‘ground-state’ pluripotente stamcel; de ‘perfecte’ iPS-cel die het meest gelijk is aan de embryonale stamcel [49]. Doordat iPSC een herprogrammering hebben doorgemaakt (het van gespecificeerde cel weer stamcel worden) ontstaan er epigenetische en genetische afwijkingen die niet voorkomen bij embryonale stamcellen. Niet alle verschillen tussen hESC en iPSC hoeven nadelige effecten te hebben in nieuwe celtypes. Daarom worden in veel studies hESC

met iPSC vergeleken om te onderzoeken of er verschillen zijn in de functie van gedifferentieerde celtypes [86].
Deels komen epigenetische en genetische problemen pas aan het licht als er transplantatiestudies in dieren worden gedaan. Een van de problemen met iPSC is de werking van de X-chromosomen. In normale vrouwelijke cellen staat één van beide chromosomen uit. De cel functioneert niet goed als beide X-chromosomen aan of uit staan [87]. Uit onderzoek blijkt dat het lastig is om bij vrouwelijke iPSC te zorgen dat er maar één X-chromosoom geactiveerd is. Twee actieve X-chromosomen in een iPS-cel zou kunnen leiden tot kanker. Om iPSC van vrouwen te kunnen gebruiken voor transplantatiedoeleinden is het nodig om dit vraagstuk opgelost te hebben [88].

Er is weinig bekend over langetermijneffecten van iPSC bij transplantatie. Uit dierstudies blijkt dat er een verhoogde kans is op tumoren. Bij gebruik van embryonale stamcellen bestaat dit risico ook, maar voor iPSC zijn er aanwijzingen dat de tumoren sneller ontwikkelen en agressiever zijn [89]. Een andere complicerende factor bij het gebruik van iPSC is, dat anders dan embryonale cellen, iPSC al deel hebben uitgemaakt van een gedifferentieerd weefsel in het lichaam. Als men geen maatregelen neemt dan willen iPSC weer terugkeren naar het celtype dat ze oorspronkelijk waren. Een huidcel waarvan een iPS-cel is gemaakt, wil weer terug-differentiëren tot huidcel. Het blijkt lastig om het geheugen van de cellen volledig te wissen, zonder dat de rest van de cel wordt aangetast [90].

4 Voortplantingsgeneeskunde – kunstmatige voortplantingstechnieken

In de voortplantingsgeneeskunde en ontwikkelingsbiologie worden geslachtscellen, de bevruchting en het embryo en de ontwikkeling daarvan bestudeerd. Fundamenteel onderzoek vindt onder andere plaats naar de vorming van rijpe geslachtscellen of de communicatie tussen cellen in het embryo. Volgens de geraadpleegde deskundigen is er nog relatief weinig bekend hoe het vroege menselijke embryo is opgebouwd en hoe de cellen weten in welk celtype ze moeten differentiëren. Behalve basale kennis over voortplanting en embryonale ontwikkeling, levert fundamenteel onderzoek naar bijvoorbeeld pluripotentie, informatie op die later mogelijk bij kunstmatige voortplantingstechnieken toegepast kan worden, behulpzaam kan zijn bij de ontwikkeling van stamcellijnen uit embryo's, of bij de ontwikkeling van therapieën bij infertiliteit.

Wereldwijd zijn inmiddels ruim vijf miljoen kinderen met behulp van kunstmatige voortplantingstechnieken geboren. Maar er zijn ook nog onzekerheden over de toegepaste technieken [91]. In het recente overzichtsartikel van Pinborg et al. (2013) worden onder andere de embryo-kweekomstandigheden, ICSI-methode, het invriezen van embryo's, de ovariumstimulatie en infertiliteit van één van de ouders genoemd als mogelijke oorzaken waardoor kinderen geboren met behulp van kunstmatige voortplantingstechnieken meer risico's op aangeboren afwijkingen hebben. Bij onderzoek naar kunstmatige voortplantingstechnieken is het niet mogelijk fase I/II klinische trials (onderzoek bij mensen om veiligheid van een toepassing te onderzoeken) uit te voeren. Na dierstudies, in vitro-onderzoek met humane cellen en restembryo's is de volgende stap het tot stand brengen van een zwangerschap.
Volgens Nederlandse deskundigen bestaat het risico dat nieuwe technieken geïntroduceerd worden zonder uitvoerig te zijn getest op veiligheid. Ten eerste doordat Nederlandse onderzoekers door het verbod op speciaal kweken niet alle gewenste onderzoeken kunnen uitvoeren. Ten tweede doordat in het buitenland veel IVF-klinieken een commerciële grondslag hebben, waardoor commerciële motieven een rol kunnen spelen bij de introductie van nieuwe technieken, bijvoorbeeld door nieuwere technieken aan te willen bieden dan concurrerende klinieken.

Dit hoofdstuk biedt een overzicht van de belangrijkste recente wetenschappelijke ontwikkelingen in de kunstmatige voortplantingsgeneeskunde, waaronder de ontwikkeling van geslachtscellen uit stamcellen (paragraaf 4.1), het verbeteren van kunstmatige voortplantingstechnieken (paragraaf 4.2) en technieken om het risico op erfelijke/aangeboren afwijkingen te verlagen (paragraaf 4.3). Overzichten van de beschreven ontwikkelingen zijn ook weergegeven in Overzichtstabel III (Ontwikkelingen in de Voortplantingsgeneeskunde, p.58) en Overzichtstabel IV (Technieken voor therapie en diagnostiek van erfelijke/aangeboren aandoeningen bij embryo's, p.63).

4.1 Ontwikkeling van geslachtscellen

Geslachtscellen uit stamcellen
Als het mogelijk is om uit stamcellen alle typen cellen van het lichaam te maken (zie hoofdstuk 2), dan kunnen in theorie hESC ook gebruikt worden voor het tot stand brengen van mannelijke en vrouwelijk geslachtscellen [92-94]. Het onderzoek hiernaar verkeert in een preklinische fase. Er is nog weinig kennis over de manier waarop geslachtscellen in het lichaam ontstaan, waardoor het in het laboratorium kweken van gezonde geslachtscellen geen eenvoudige procedure is. Veel studies zullen in eerste instantie basale vragen onderzoeken, voordat er klinische toepassingen voor patiënten beschikbaar komen [94].

Onderzoekers zijn er in 2009 in geslaagd om vroege voorlopers van geslachtscellen van mensen te kweken uit iPSC [50].
Volgens de geraadpleegde deskundigen en de wetenschappelijke literatuur [94] zal er nog veel onderzoek naar de veiligheid van geslachtscellen uit stamcellen moeten plaatsvinden. Het is volgens deskundigen niet aannemelijk dat er binnen 10-20 jaar een techniek voor patiënten beschikbaar is om uit hESC of iPSC geslachtscellen te ontwikkelen. Voor onderzoek naar de veiligheid van geslachtscellen uit stamcellen zal het niet te vermijden zijn speciaal embryo's te kweken. Dit om te onderzoeken of met deze geslachtscellen gezonde embryo's kunnen ontstaan. Dit onderzoek kan onder de huidige wetgeving niet plaatsvinden in Nederland.

Geslachtscellen uit ingevroren testis- of ovariumweefsels
Veel behandelingen voor kanker bij jonge kinderen zorgen bij de patiënt voor infertiliteit. Jonge patiënten kunnen voorafgaand aan de behandeling testisweefsel of ovariumweefsel laten invriezen. Als de patiënt volwassen is kunnen de weefsels ontdooid worden. Bij mannen kan geprobeerd worden om uit het ontdooide testisweefsel in het laboratorium spermatogoniale stamcellen te kweken en deze cellen te laten vermenigvuldigen. De cellen kunnen daarna bij de mannen ingespoten wordt in de testes. De mannen zouden op deze manier hun eigen zaadcellen kunnen produceren en op natuurlijke wijze kinderen kunnen verwekken. Bij vrouwen kan het ovariumweefsel teruggeplaatst worden. Na de terugplaatsing kunnen er eicellen tot rijping komen. Vrouwen zouden vervolgens zwanger kunnen worden. Over het risico naar erfelijke en aangeboren afwijkingen bij kinderen geboren na toepassing van deze technieken is weinig bekend, maar de technieken worden experimenteel toegepast en er zijn wereldwijd enkele kinderen geboren na toepassing van deze methoden; in Nederland nog niet [95, 96]. Voor meer kennis over de werkzaamheid en veiligheid van deze technieken bij mannen en bij vrouwen, zouden embryo's gekweekt moeten worden, zodat de embryo's onderzocht kunnen worden op epigenetische of genetische afwijkingen. Het is volgens de deskundigen denkbaar dat behandelingen op basis van ingevroren testis- of ovariumweefsel binnen een paar jaar worden aangeboden in Nederland. Veiligheidstesten met geslachtscellen waaruit embryo's ontstaan is in Nederland echter niet mogelijk.

In vitro maturatie van eicellen
Bij IVF-behandelingen wordt via hormoonstimulatie geprobeerd meerdere eicellen tot rijping te laten komen met behulp van een hormoonbehandeling. Het lukt echter niet altijd om een groot aantal in voldoende mate rijpe eicellen te verkrijgen. Ook zijn er vrouwen die geen intensieve hormoonstimulatie kunnen verdragen, waardoor het gebruik van onrijpe eicellen de enige mogelijkheid is. Hoewel het slagingspercentage nog laag is, worden onrijpe eicellen in het laboratorium gerijpt om te gebruiken in IVF-behandelingen [97]. Ook in Nederland is deze techniek toegepast [98].
Een andere doelgroep voor IVF-behandeling met in vitro gerijpte eicellen zijn vrouwen van wie onrijpe eicellen zijn ingevroren, voorafgaand aan een behandeling die de vruchtbaarheid zou aantasten. In verschillende buitenlandse laboratoria wordt geprobeerd om verschillende stadia van onrijpe eicellen in vitro op te kweken tot rijpe eicellen die bevrucht kunnen worden. Dit wordt in vitro maturatie van eicellen genoemd [99]. Vanuit wetenschappelijk oogpunt is de ultieme test op rijpheid het creëren van een gezond embryo [100]. Deskundigen geven aan dat de stappen naar de in vitro ontwikkeling van goede rijpe eicellen langzaam gaan. Er wordt bijvoorbeeld nog gezocht naar het juiste moment in de ontwikkeling van onrijpe eicel naar rijpe eicel om de eicel in te vriezen voor bevruchting in een later stadium [101]. Er is geen wetenschappelijke literatuur gevonden waaruit blijkt dat er in Nederland onderzoek wordt gedaan naar de veiligheid van in vitro maturatie van onrijpe eicellen. Bevruchting van gerijpte eicellen mag in Nederland alleen tijdens IVF-behandeling plaatsvinden en niet uitsluitend voor wetenschappelijk onderzoek.

Technieken met chirurgische verkregen zaadcellen
Sinds oktober 2014 is in Nederland het moratorium op ICSI met chirurgisch verkregen zaadcellen uit de bij- of teelbal opgeheven [102]. Bij deze technieken worden rijpe zaadcellen verkregen via een chirurgisch ingreep uit de bijbal (MESA/PESA) of jonge (onrijpe) zaadcellen uit de zaadbal (TESE). Vervolgens wordt gezocht naar geschikte zaadcellen voor een ICSI-behandeling. De afgelopen jaren hadden het AMC en het Radboudumc toestemming om TESE een paar jaar in studieverband uit te voeren zodat de kinderen die werden geboren na deze vruchtbaarheidstechniek gevolgd konden

worden. Onderzoek in het laboratorium met uit MESA/PESA of TESE afkomstige zaadcellen waarmee speciaal voor het onderzoek embryo's tot stand worden gebracht (gekweekte embryo's), is in Nederland niet mogelijk. Volgens deskundigen is dit onderzoek wel nodig omdat er aanwijzingen zijn dat TESE het risico op imprintings-stoornissen vergroot. Imprintings-stoornissen kunnen ervoor zorgen dat bepaalde genen niet tot expressie komen, terwijl dit wel nodig is voor een gezonde ontwikkeling [103].

4.2 Verbetering van bestaande laboratoriumomstandigheden

Om bestaande kunstmatige voortplantingsbehandelingen zoals IVF en ICSI te verbeteren wordt voortdurend onderzoek gedaan naar de omstandigheden waarin het embryo wordt gekweekt en bewaard. Hieronder worden enkele ontwikkelingen op dit gebied beschreven.

Embryo-kweekomstandigheden
Er zijn aanwijzingen dat het kweekmedium en de manier waarop embryo's worden gekweekt, effect hebben op de ontwikkeling van een embryo en op de latere ontwikkeling van het kind [91, 104]. Er vindt onderzoek plaats naar de verbetering van kweekomstandigheden, bijvoorbeeld naar 'lab on a chip' (microfluid)-technologie. In een Nederlandse studie afgerond in 2013, blijkt microfluid-technologie succesvol te kunnen bijdragen aan de in vitro-ontwikkeling van humane blastocysten omdat deze techniek een optimalere en natuurlijkere omgeving biedt voor in vitro-ontwikkeling van (gedoneerde) restembryo's dan de standaard gebruikte microdropcultuur [105]. Een ander voorbeeld van een nieuwe ontwikkeling die de bestaande embryo-kweekomstandigheden zou kunnen verbeteren is een kantelend kweeksysteem (tilting embryo culture system (TECS)). Deze techniek is getest in een gerandomiseerde studie binnen bestaande IVF-behandelingen [106].

Uit Nederlands onderzoek met embryo's tijdens IVF-behandelingen blijkt dat het type kweekmedium invloed heeft op de embryonale groei en op het geboortegewicht [107]. Dit onderzoek is met twee verschillende commercieel verkrijgbare en veelgebruikte kweekmedia uitgevoerd. Uit een vervolgstudie, gepubliceerd in 2014, blijkt dat het effect van het type kweekmedium op het gewicht van kinderen ook na twee jaar nog aanwezig is [108]. Volgens deskundigen is meer onderzoek nodig naar de effecten van kweekomstandigheden op humane embryo's. In Nederland zijn er volgens de deskundigen te weinig restembryo's beschikbaar om hiernaar voldoende onderzoek te doen. Ook in de internationale wetenschappelijke literatuur wordt gevraagd om meer zorgvuldig opgezette gerandomiseerde klinische studies, epidemiologische studies en meer openheid over de inhoud en totstandkoming van nieuwe commerciële kweekmedia [109].

Embryo-opslag
Bij IVF ontstaan regelmatig meerdere embryo's. Om meerlingzwangerschappen zoveel mogelijk te voorkomen worden niet meer dan één of twee embryo's tegelijkertijd in de baarmoeder geplaatst. In veel gevallen blijven embryo's over. Deze kunnen door invriezen worden bewaard (cryopreservatie) en op een later moment worden gebruikt. In het verleden werd hiervoor de 'slow freezing'-methode gebruikt [110]. In Nederlandse IVF-klinieken wordt nu meestal vitrificatie gebruikt. Vitrificatie is een relatief nieuwe techniek waardoor embryo's voor een lange periode kunnen worden bewaard zonder dat kristalvorming in het embryo optreedt. In 2008 concludeerde de Nederlandse Vereniging voor Obstetrie en Gynaecologie (NVOG) dat de vitrificatie van humane eicellen en embryo's de huidige IVF-praktijk kan verbeteren [111]. Bij vitrificatie zijn na ontdooien de embryo-overlevingscijfers en de in vitro-ontwikkeling van de embryo's beter dan na 'slow freezing' [112]. Om het effect van vitrificatie als nieuwe embryo-opslagmethode te bestuderen en verder te optimaliseren wordt onderzoek met restembryo's gedaan [100, 113]. Meer embryo's overleven het ontdooiproces na vitrificatie dan na 'slow freezing' [113].

De opslag van embryo's is, volgens deskundigen, in Nederland van goede kwaliteit. Bij ongeveer een kwart van de kinderen geboren uit IVF zijn ingevroren embryo's gebruikt.

4.3 Beoordelen van embryokwaliteit

Er bestaan verscheidene testen voor de morfologische beoordeling van embryo's met als doel terugplaatsing van gezonde embryo's. Het selecteren van embryo's van goede kwaliteit voor de IVF/ISCI-behandeling verhoogt de kans op een gezonde zwangerschap en een gezonde baby. Hieronder worden enkele nieuwe ontwikkelingen beschreven gericht op het beoordelen van de kwaliteit van embryo's.

Time-lapse embryo imaging

De nieuwe techniek 'time lapse embryo imaging' (time-lapsing) zou kunnen leiden tot verbetering van bestaande embryo-selectietechnieken. Time-lapsing is een non-invasieve techniek waarbij tijdens de incubatie duizenden foto's worden gemaakt van het in vitro embryo. Time-lapsing zou een klinische hulpmiddel kunnen zijn om euploïde en aneuploïde blastocysten van elkaar te onderscheiden [114]. Ook kan time-lapsing, gecombineerd met de meting van het zuurstofverbruik van embryo's, nieuwe dynamische markers opleveren voor embryonale kwaliteit [115].
Volgens deskundigen is het nog niet duidelijk welke onderdelen van deze nieuwe techniek bepalend zijn voor een hogere kwaliteit van het teruggeplaatste embryo. Het embryo bevindt zich bij de time-lapse-methode namelijk in een gesloten broedstoof waarboven de camera hangt. Dit geeft het voordeel dat het embryo niet verplaatst hoeft te worden om het te beoordelen. Mogelijk is de kwaliteit van de broedstoof en het stabiele groeiklimaat de reden waarom de embryo's zich beter ontwikkelen en heeft de nieuwe manier van selectie via het fotograferen van het embryo geen effect. De time-lapse-methode wordt al toegepast in klinieken in onder andere Denemarken en het Verenigd Koninkrijk. Nederlandse deskundigen menen dat er meer onafhankelijk onderzoek naar deze techniek nodig is voordat besloten kan worden om de techniek ook in Nederland toe te passen. Deze terughoudendheid wordt ook uitgebreid beschreven in een recent overzichtsartikel van auteurs uit Nederland, het Verenigd Koninkrijk en Nieuw Zeeland [116]. Ze beschrijven het gebrek aan bewijs dat bestaat voor deze techniek en de noodzaak om goede onafhankelijke studies uit te voeren. Volgens de auteurs zouden meer studies uitgevoerd moeten worden waarbij vrouwen die IVF ondergaan willekeurig ingedeeld worden in een studiegroep (randomisatie van behandeling, in plaats van randomisatie van eicellen), dit zou namelijk meer aanwijzingen kunnen geven of de techniek tot daadwerkelijk meer geboortes leidt.

Overige technieken voor beoordeling embryokwaliteit

Voor het beoordelen van de embryokwaliteit vindt ook onderzoek plaats naar de relatieve lengte van de telomeren in de cumuluscellen (cellen die zich rondom de eicel bevinden). Deze relatieve telomeerlengte in cumuluscellen ten tijde van de eicelverzameling zou een nieuwe biomarker kunnen zijn voor het selecteren van zeer competente eicellen en embryo's van hoge kwaliteit [106]. Een andere ontwikkeling is het aantonen van een relatie tussen extracellulaire vesicels (EV) (blaasjes die door cellen vrijgegeven worden) in het kweekmedium en de ontwikkeling van het embryo. Uit onderzoek blijkt dat embryo's bij de ontwikkeling EL uitscheiden. Er zijn aanwijzingen dat EL-grootte gebruikt kan worden om de kwaliteit van embryo's te voorspellen [117]. Beide studies vonden plaats met restembryo's.

5 Voortplantingsgeneeskunde – voorkomen van erfelijke of aangeboren aandoeningen

Dit hoofdstuk biedt een overzicht van de belangrijkste recente wetenschappelijke ontwikkelingen in de kunstmatige voortplantingsgeneeskunde die gebruikt worden om de kans op erfelijke/aangeboren afwijkingen in embryo's zo klein mogelijk te maken. In de eerste paragraaf (5.1) wordt embryoselectie ter voorkoming van erfelijke afwijkingen beschreven. In paragraaf 5.2 wordt mitochondriale vervanging en donatie beschreven ter voorkomen van mitochondriale ziekten. De ontwikkelingen op dit gebied zijn ook weergegeven in Overzichtstabel IV (Technieken voor therapie en diagnostiek van erfelijke/aangeboren aandoeningen bij embryo's, p.63).

5.1 Embryoselectie ter voorkoming van erfelijke afwijkingen

Optimaliseren pre-implantatie genetische screening

Bij pre-implantatie genetische screening (PGS) wordt van een embryo in het laboratorium op dag drie een enkele cel verwijderd. Het embryo ondervindt hiervan geen schade. De cel wordt geanalyseerd op aneuploïdie (één of meer chromosomen te weinig of te veel) [110]. Alleen embryo's met het juiste aantal chromosomen (euploïde embryo's) worden vervolgens in de verdere IVF-behandeling gebruikt [118]. Voor het optimaliseren van PGS zijn technieken ontwikkeld zoals 'comparative genomic hybridisation arrays' (array CGH) en 'single nucleotide polymorphism arrays' (SNP) [119]. Bij array CGH wordt een monster uit een eicel of uit een enkele cel uit een blastocyst vergeleken met een normaal controlemonster; de volledige set van 23 chromosomenparen kan zo vergeleken worden, in plaats van slechts een deel van de chromosomenparen, zoals bij vroegere technieken het geval was. Array CGH wordt op dit moment door slechts enkele klinieken in het Verenigd Koninkrijk aangeboden [13]. Voor de ontwikkeling van een efficiënt protocol voor de analyse van de cellen via array CGH doen onderzoekers in België [100] onderzoek met restembryo's. Dit experimentele protocol zal worden toegepast op humane pre-implantatie embryo's. SNP maakt het ook mogelijk om de volledige set van 23 chromosomenparen te onderzoeken. De technieken 'kwantitatieve polymerasekettingreactie' (qPCR) en 'bacterial artificial chromosomes (BACs)-on-Beads' (BoBs) zijn andere methoden voor het analyseren van embryo's op chromosoomaantal. Onderzoek met humane restembryo's laat zien dat qPCR en BoBs potentie hebben voor een hoge diagnostische nauwkeurigheid [106, 120].

Toepassing next generation sequencing bij PGD

Pre-implantatie genetische diagnostiek (PGD) is een techniek die gebruikt wordt voor het aantonen van bekende genetische aandoeningen bij embryo's die via IVF tot stand zijn gekomen. Momenteel kan dit voor meer dan 100 verschillende aandoeningen [13]. PGD gebaseerd op 'next generation sequencing' (PGD-NGS) zou het mogelijk maken om alle 24 chromosomen (de 22 niet-geslachtschromosomen en de X- en Y-chromosomen) te onderzoeken op een variëteit aan monogene ziekten (erfelijke ziekte door afwijking in een enkel gen). NGS is een techniek die het mogelijk maakt grote delen van het genoom op een relatief snel en goedkope manier op afwijkingen te onderzoeken.

PGD-NGS heeft potentie voor een efficiënte diagnostische nauwkeurigheid in de genetische analyse van humane embryo's [106]. In enkele Europese landen wordt NGS al toegepast, bijvoorbeeld in Polen [121]. Binnen enkele jaren zal deze techniek breder beschikbaar komen. Deskundigen benadrukken dat voor die tijd nagedacht moet zijn over een goede toepassing van deze techniek. Bij PGD wordt namelijk vaak maar één cel onderzocht. De vraag is hoe representatief één cel is voor een embryo in ontwikkeling. En als NGS niet gericht wordt toegepast (onderzoek naar bekende genetische afwijkingen) zal aan het merendeel van de embryo's iets op te merken zijn.
In het genoom zijn factoren te vinden die bijdragen aan een verhoogde kans op de ontwikkeling van bepaalde ziekten of aandoeningen, maar bieden geen zekerheid dat deze ziekten of aandoeningen ook

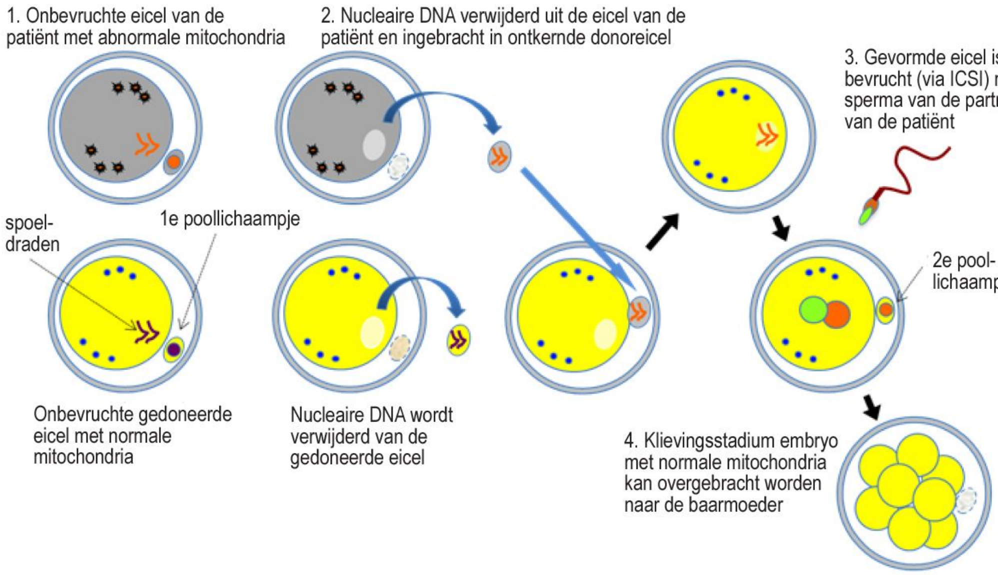
daadwerkelijk tot ontwikkeling komen. De Gezondheidsraad heeft in een recente advies over NGS in het algemeen (niet specifiek gericht op PGD) een aantal aanbevelingen gedaan voor het gebruik van NGS voor diagnostiek. Een van de aanbevelingen is om te investeren in verbetering van de kwaliteit van sequencing en de interpretatie ervan [122].
Onderzoek naar PGD-NGS kan in restembryo's plaatsvinden.

Moleculaire parameters
Moleculaire parameters kunnen bijdragen aan het ontrafelen van erfelijke aandoeningen, het verbeteren van de embryoselectie en het IVF-resultaat. In een studie zijn nieuwe moleculaire parameters bestudeerd voor de selectie van embryo's zonder erfelijke aandoeningen [106]. Het gaat hierbij om genome-wide genexpressie in de cumuluscellen, de beschermende cellen rondom een eicel. De resultaten van de studie laten zien dat expressie van een aantal geselecteerde genen in de cumuluscellen een indicator zou kunnen zijn bij de selectie van geschikte eicellen voor IVF. De studie is uitgevoerd tijdens bestaande IVF-behandelingen. De profilering van genexpressie in de cumuluscellen is mogelijk een bruikbare methode voor in de nabije toekomst [123, 124].

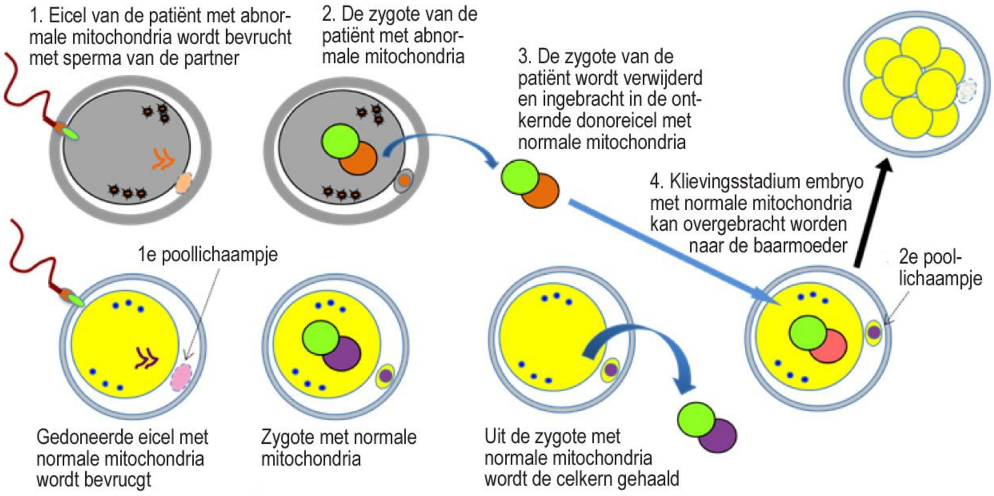
5.2 Voorkomen van mitochondriale aandoeningen

Mitochondriale aandoeningen zijn zeldzaam. Kinderen met mitochondriale aandoeningen zijn vaak ziek en kunnen verschillende symptomen hebben zoals doofheid, blindheid, spierzwakte, hart-, lever- of nierfalen [125]. Mitochondriale aandoeningen zijn erfelijk door genetische afwijking(en) in het mitochondriaal DNA in de eicel. Omdat in veel gevallen niet alle mitochondriën in het embryo zijn aangetast wordt geprobeerd om in te schatten hoeveel procent van de mitochondriën zijn aangetast. Komt dit boven een bepaalde grens, dan is de kans op ziekte groot. Met de huidige technieken is niet met zekerheid te bepalen of een embryo zich ontwikkelt tot een kind met ziekteverschijnselen. Op dit moment is eiceldonatie van een vrouw met gezonde mitochondriën de enige optie om er zeker van te zijn een mitochondriale ziekte uit te sluiten. Het kind is dan geen genetisch-eigen kind van de moeder.

Mitochondriale donatie
Via mitochondriale donatie zouden mitochondriale ziekten voorkomen kunnen worden. Bij mitochondriale donatie wordt DNA uit de nucleus van een eicel van de patiënt met ongezonde mitochondria overgebracht in een eicel van een donor met gezonde mitochondria waaruit het nucleaire DNA van de donor is verwijderd. Mitochondriale donatie is mogelijk via twee technieken: maternal spindle transfer (MST; zie Afbeelding Va) en pro-nuclear transfer (PNT; zie Afbeelding Vb). Na toepassing van deze technieken zijn er muizen en apen geboren (de dieren zijn nu volwassen en gezond), ook zijn op deze manier humane embryo's tot stand gekomen. Het expertpanel van de Human Fertilisation and Embryology Authority (HFEA) in het Verenigd Koninkrijk gaf in juni 2014 aan dat deze procedure 'niet onveilig' was en 'potentieel nuttig' [126]. Op 3 februari 2015 heeft het Britse parlement ingestemd met het wetvoorstel om deze technieken toe te staan [127].



Afbeelding Va Maternal spindle transfer. (Bron: MRC Harwell, 2014).

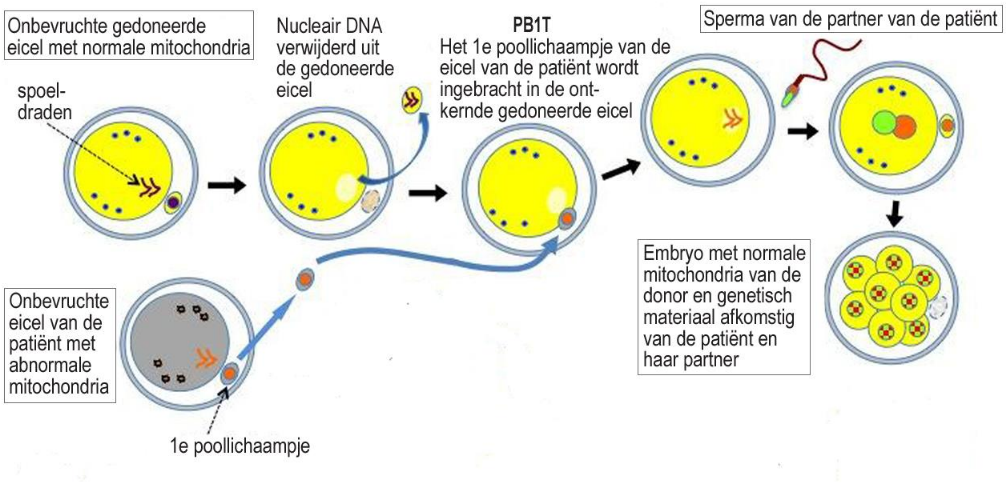


Afbeelding Vb Pronuclear transfer (PNT). (Bron: MRC Harwell, 2014).

Mitochondriale vervanging

Bij de mitochondriale vervanging gaat het om ‘polar body transfer’ (zie Afbeelding VI). Asymmetrische celdeling (cytokinese) zorgt tijdens het ontstaan van eicellen (oögenese) voor de vorming van poollichaampjes. Tijdens het ontstaan van eicellen delen de voorlopers van de eicellen zich om zo tot een haploïde eicel te komen (cel waarin één exemplaar van elk chromosoom aanwezig is). Om zich van de helft van de chromosomen te ontdoen deelt de voorloper van de eicel zich in een poollichaampje en een eicel. Een poollichaampje bevat weinig mitochondria, maar wel hetzelfde genetische materiaal als een eicel, daarom kunnen poollichaampjes worden gebruikt om de overdracht van ongezond mitochondriaal DNA te voorkomen. Een poollichaampje wordt uit een eicel met ongezonde mitochondria gehaald en geplaatst in de celkern van een gezonde eicel waar het erfelijk materiaal is uitgehaald. Deze techniek is getest op muizen en het onderzoek laat zien dat de gekweekte embryo’s gezond waren en zich goed ontwikkelden. Toen onderzoekers de poollichaam-procedure in humane zygoten testten, zagen zij geen afwijkingen in het aantal chromosomen of andere grove DNA-afwijkingen [128, 129]. Het HFEA-expertpanel in het Verenigd Koninkrijk is van opvatting dat de techniek zich in een vroege ontwikkelingsfase bevindt, maar dat de ontwikkelingen in de komende jaren waarschijnlijk in een snel tempo zullen gaan [13].

Bij dit type onderzoek is het nagenoeg onmogelijk onderzoek te doen zonder speciaal gekweekte embryo's. Volgens de geraadpleegde deskundigen is het niet nodig om fundamenteel onderzoek naar dit onderwerp in Nederland te laten plaatsvinden. Het onderzoek in het Verenigd Koninkrijk is van goede kwaliteit. Volgens de deskundigen is het wel denkbaar dat als er een gestandaardiseerde methode in het buitenland ontwikkeld is en men deze in Nederland zou willen introduceren, er een korte periode embryo's gekweekt moeten worden om de vaardigheden aan te leren om deze technieken uit te voeren zodat de techniek veilig bij patiënten in Nederland toegepast kan worden.



Afbeelding VI. Polar body transfer, met het eerste poollichaampje; procedure kan ook met het tweede poollichaampje. (Bron: Greenfield A, 2014).

6 Is speciaal kweken nodig?

In een reactie op het evaluatierapport van de Embryowet uit 2012 heeft de minister van VWS aangegeven dat een afweging ten aanzien van het speciaal kweken van embryo's opnieuw gemaakt zou kunnen worden als op het terrein van behandeling, diagnostiek of medische wetenschap belangrijke resultaten of nieuwe ontwikkelingen geboekt kunnen worden die niet op een andere wijze, dan door speciaal kweken van embryo's, mogelijk zijn. Het is volgens de minister onduidelijk of er op dit moment al sprake is van zulke *veelbelovende* medische ontwikkelingen [2]. De vraag voor het onderhavige onderzoek was dan ook of de medisch-wetenschappelijke ontwikkelingen in een zodanig stadium verkeren waarbij een *redelijke verwachting bestaat dat deze in de komende jaren tot relevante klinische toepassingen* leiden, als het *gebruik en de totstandbrenging van embryo's*, anders dan voor zwangerschap, wordt toegestaan.

In de voorgaande hoofdstukken zijn de ontwikkelingen geschetst op de terreinen waar het speciaal kweken van embryo's van toepassing zou kunnen zijn. Het gaat om ontwikkelingen ten aanzien van het gebruik van humane embryonale stamcellen voor therapie en diagnostiek (hoofdstuk 3: Transplantatiegeneeskunde). Alsmede over ontwikkelingen voor kunstmatige voortplantingstechnieken (hoofdstuk 4) en het voorkomen van genetische aandoeningen en het gebruik van embryo's en geslachtscellen voor dit onderzoek (hoofdstuk 5), beide onderwerpen op het terrein van de voortplantingsgeneeskunde.

Hierna vatten we de kernelementen van de onderzoeksvraag voor elk van deze gebieden (paragraaf 6.1-6.3 en Tabel 1) samen. Afsluitend wordt een aantal overige overwegingen ten aanzien van het verbod op het speciaal kweken van embryo's beschreven, naar voren gekomen tijdens het onderzoek (paragraaf 6.4).

6.1 Transplantatiegeneeskunde

6.1.1 "Redelijke verwachting komende jaren relevante klinische toepassing"

De in het onderzoek geraadpleegde deskundigen geven aan dat een ontwikkeling met hESC binnen de transplantatiegeneeskunde als veelbelovend voor de komende jaren beschouwd kan worden, als de eerste klinische trials uitgevoerd of op zijn minst gepland zijn. Het meeste onderzoek naar therapeutische toepassingen gebaseerd op humane embryonale stamcellen (uit cellijnen) verkeert echter nog in een preklinische fase, zoals hESC-gemedieerd herstel van het binnenoor als behandeling voor doofheid [32] (paragraaf 3.1.1).

Voor een klein aantal ziekten worden momenteel klinische trials uitgevoerd of starten deze de komende jaren (paragraaf 3.1.1). De eerste Europese fase I/II klinische trial met cellen afkomstig van hESC voor behandeling van Stargardt's maculadystrofie in sinds 2012 in uitvoering [130]. In de Verenigde Staten zijn recent twee klinische trials met patiënten met Stargardt's maculadystrofie en leeftijdsgebonden maculadegeneratie afgerond. De resultaten van deze trials laten zien dat cellen afkomstig uit hESC veilig gebruikt kunnen worden in het oog en het zicht bij een groot deel van de patiënten verbetert [20]. Preklinische studies naar de behandeling van diabetes mellitus type I met insuline-producerende betacellen uit hESC en de behandeling van de ziekte van Parkinson met dopamine-producerende neuronen uit hESC worden zeer binnenkort afgerond. Voor diabetes is er inmiddels toestemming te starten met een fase I/II klinische trial, voor de ziekte van Parkinson is de verwachting dat deze trials zullen starten in de periode 2015-2017. Een trial met een uit hESC ontwikkeld kankervaccin wordt voorbereid. Het vaccin zal worden toegepast bij patiënten met geopereerde vroegstadium longkanker en patiënten met vergevorderde stadia van de ziekte.

Daarnaast wordt binnen de transplantatiegeneeskunde ook veel onderzoek gedaan met geïnduceerde pluripotente stamcellen (iPSC) (paragraaf 3.2). Deze iPSC worden uit volwassen lichaamscellen tot stand gebracht, er zijn geen embryo's nodig. iPSC kunnen patiënt-specifiek zijn, als de gebruikte volwassen cellen afkomstig zijn van de patiënt voor wie de therapie bedoeld is. Uit de iPSC kunnen, net als bij hESC, vervolgens verschillende typen lichaamscellen worden gemaakt. Er zijn bijvoorbeeld uit iPSC patiënt-specifieke retina-pigmentepitheel (RPE)-cellen gemaakt. Een fase I klinische trial naar de toepassing van deze cellen bij natte maculadegeneratie loopt sinds 2013. Maar het meeste onderzoek met op iPSC gebaseerd therapieën bevindt zich in een preklinische fase.
IPSC worden ook gebruikt voor het maken van patiënt-specifieke ziektemodellen waarop geneesmiddelen getest kunnen worden, dit wordt momenteel al toegepast, zoals voor onderzoek naar een behandeling van retinitis pigmentosa [64]. De geraadpleegde Nederlandse deskundigen zien vooral deze laatstgenoemde ontwikkeling als een veelbelovende toepassing van iPSC en in het bijzonder voor ziekten waar een stamceltherapie in de nabije toekomst nog geen uitkomst biedt.

De ontwikkelingen gaan snel en deskundigen verwachten dat klinische toepassingen uit pluripotente stamcellen (hESC of iPSC) binnen 5-15 jaar beschikbaar zullen zijn. Volgens de Research Councils van het Verenigd Koninkrijk kan de belofte van de klinische toepassing van onderzoek op het gebied van de transplantatiegeneeskunde alleen ingelost worden door een gezamenlijke inspanning van onderzoekers, artsen en het bedrijfsleven [131]. Er zijn echter ook nog veel onzekerheden. Een belangrijke stap van onderzoek is het gestandaardiseerd kunnen produceren van het juiste type cellen en onderzoek naar een veilige manier om de cellen in het lichaam op de juiste plek te krijgen en te houden (zie paragraaf 3.1.1). Over langetermijneffecten van op hESC of IPSC gebaseerde therapieën is nog weinig bekend. Uit dierenstudies blijkt dat er een verhoogde kans is op tumoren. Er zijn aanwijzingen dat bij therapie gebaseerd op iPSC de kans op snel ontwikkelende en agressieve tumoren groter is [89].

Voor complexe organen zoals hart of nieren, zijn de komende jaren geen transplantatietoepassingen te verwachten. Complete organen of delen van de organen zijn tot nu toe te complex gebleken om in vitro te kweken, ook reparatie van organen zoals hart en nieren blijkt door de ingewikkelde architectuur van de organen niet eenvoudig. Er zullen in de komende jaren op basis van hESC wel ziektemodellen gekweekt worden voor gebruik in geneesmiddelenonderzoek, voor bijvoorbeeld hart- of nierziekten. Onderzoek met deze ziektemodellen is een veilige manier voor het testen van geneesmiddelen en het zou kunnen zorgen voor een verminderd gebruik van proefdieren. Met patiënt-specifieke cellijnen uit iPSC kunnen per patiënt de effectiefste medicijnen worden gezocht.

Volgens de geïnterviewde Nederlandse deskundigen zijn in de nabije toekomst geen klinische toepassingen te verwachten van patiënt-specifieke stamcellijnen verkregen via therapeutisch klonen (via celkerntransplantatie). Er zijn teveel onzekerheden, zoals epigenetische en genetische problemen met via therapeutisch klonen verkregen stamcellen. Er zijn wel enkele onderzoeksgroepen op de wereld die het verkrijgen van embryonale stamcellen via celkerntransplantatie onderzoeken.

Het is niet aannemelijk dat er in de komende jaren geslachtscellen uit hESC of iPSC beschikbaar komen voor patiënten zonder eigen geslachtscellen. In theorie kunnen uit pluripotente cellen alle celtypes van het lichaam worden gemaakt, dus ook geslachtscellen. Er is nog weinig kennis over de manier waarop geslachtscellen in het lichaam ontstaan, waardoor het in het laboratorium kweken van gezonde geslachtscellen geen eenvoudige procedure is. Veel studies zullen in eerste instantie basale vragen onderzoeken, voordat er klinische toepassingen voor patiënten beschikbaar komen [93].

6.1.2 "Gebruik en totstandbrenging van embryo's"

Voor het medisch-wetenschappelijk onderzoek met hESC in de transplantatiegeneeskunde en voor het ontwikkelen van geneesmiddelen worden grotendeels bestaande cellijnen gebruikt. Deze cellijnen zijn door onderzoeksgroepen zelf gegenereerd via restembryo's van IVF-behandelingen, of afkomstig van een cellijnbank. Slechts voor een klein deel van het onderzoek (Overzichtstabel I) zijn de embryonale stamcellen afkomstig van speciaal voor het onderzoek gekweekte embryo's. Het gaat dan om fundamenteel onderzoek, bijvoorbeeld naar epigenetische stabiliteit van stamcellen. Onderzoek waarbij het speciaal kweken van embryo's nodig is vindt niet in Nederland plaats.

Het speciaal kweken van embryo's is niet aan de orde voor de ontwikkelingen op het terrein van de geïnduceerde pluripotente stamcellen (iPSC). Deze iPSC worden uit volwassen lichaamscellen tot stand gebracht, er zijn geen embryo's nodig. Voor fundamenteel onderzoek naar de werking van iPSC worden naast de iPSC ook hESC gebruikt om onder meer de pluripotente eigenschappen van iPSC en hESC te kunnen vergelijken. Ook bij de ontwikkeling van diverse celtypes voor therapieën vindt onderzoek plaats met iPSC en hESC om te bepalen of beide typen stamcellen geschikt zijn voor klinische toepassingen. Maar ook hier geldt, dat de gebruikte hESC afkomstig kunnen zijn van restembryo's en er niet een directe noodzaak is voor het speciaal kweken van embryo's.
Een uitzondering is het verkrijgen van geslachtscellen uit iPSC. Om te onderzoeken of de geslachtscellen gezond zijn, zou het tot stand brengen van embryo's noodzakelijk zijn.

Om embryonale stamcellen via therapeutische klonen (via celkerntransplantatie) te verkrijgen, is de creatie van embryo's noodzakelijk. Voordat daadwerkelijk veilige therapeutische doeleinden afgeleid kunnen worden van deze techniek, zal veel fundamenteel onderzoek naar therapeutisch klonen moeten plaatsvinden, waarvoor speciaal kweken noodzakelijk is. Het is in Nederland niet toegestaan om celkerntransplantatie uit te voeren door plaatsing van een kern van een volwassen lichaamscel in een ontkernde eicel. Dit is namelijk in strijd met het verbod op het verrichten van handelingen met geslachtscellen met het oogmerk van de geboorte van genetisch identieke menselijke individuen [1]. Onderzoek naar deze techniek vindt plaats buiten onze landsgrenzen, zoals in de Verenigde Staten.

6.2 Kunstmatige voortplantingstechnieken

6.2.1 "Redelijke verwachting komende jaren relevante klinische toepassing"

Een deel van de nieuwe ontwikkelingen op het terrein van de kunstmatige voortplantingstechnieken wordt al in Nederland toegepast, zoals vitrificatie, MESA/PESA en TESE, en het invriezen van testis- en ovariumweefsel. Het is volgens de Nederlandse deskundigen denkbaar dat behandelingen op basis van ingevroren testis- of ovariumweefsel binnen een paar jaar worden aangeboden in Nederland.

De time-lapsing-techniek waarbij de kwaliteit van embryo's beoordeeld wordt aan de hand van een grote reeks foto's van het embryo, wordt al in het buitenland toegepast. De geraadpleegde deskundigen zijn echter nog niet overtuigd van de meerwaarde van deze techniek. De Nederlandse deskundigen achten meer onafhankelijk wetenschappelijk onderzoek op zijn plaats voordat de techniek in Nederland geïntroduceerd zou kunnen worden.
Andere nieuwe, meer experimentele non-invasieve technieken voor de beoordeling van de kwaliteit van embryo's, liggen op het terrein van biomarkers, zoals telomeerlengte en extracellulaire lichamen. Het principe hierachter is dat embryo's van hoge kwaliteit via deze biomarkers te onderscheiden zijn van embryo's van minderde kwaliteit.

Voor een aantal andere technieken verloopt de ontwikkeling langzamer. In vitro maturatie (IVM) van onrijpe eicellen wordt in verschillende buitenlandse laboratoria experimenteel onderzocht, maar IVM blijkt complex en vergt nog veel onderzoek, vooral het invriezen en ontdooien van onrijpe eicellen is onderwerp van onderzoek. Dit is met name relevant bij (jonge) vrouwen die onrijpe eicellen invriezen voorafgaand aan een behandeling bij kanker die de vruchtbaarheid aantast.
Ten slotte is de differentiatie van geslachtscellen uit hESC in theorie mogelijk. Via therapeutische klonen zouden uit patiënt-specifieke stamcellen geslachtscellen verkregen kunnen worden. Een andere mogelijkheid is om via iPSC geslachtscellen te kweken. Het is volgens deskundigen niet aannemelijk dat binnen 10-20 jaar een techniek voor patiënten beschikbaar is om uit hESC of iPSC geslachtscellen te ontwikkelen.

6.2.2 "Gebruik en totstandbrenging van embryo's"

Onderzoek naar het beoordelen van de kwaliteit van embryo's, zoals time-lapsing en technieken met biomarkers zijn niet invasief en vormen weinig risico voor het embryo en kunnen met restembryo's of

tijdens bestaande IVF-behandelingen uitgevoerd worden. Optimalisatie van de vitrificatietechniek kan eveneens met restembryo's uitgevoerd worden.
De Nederlandse deskundigen beschouwen het wel als een nadeel van het verbod op speciaal kweken dat de veiligheid van bepaalde voortplantingstechnieken niet uitvoeriger in het laboratorium getest kan worden. Onderzoek naar de ontwikkeling en rijping van geslachtscellen vraagt de bevruchting van een eicel om te onderzoeken of uit de geslachtscellen een gezond embryo kan voortkomen. Ook als men de veiligheid van nu experimenteel toegepaste technieken (zoals TESE en MESA/PESA of in vitro maturatie eicellen) wil onderzoeken zullen speciaal embryo's tot stand gebracht moeten worden. Het gaat hierbij voornamelijk om onderzoek naar epigenetische en genetische afwijkingen in het embryo.
Onderzoek naar de veiligheid van de voortplantingstechnieken wordt nu veelal in een laat stadium gedaan. Tot voor kort was er zelfs weinig follow-uponderzoek van kinderen geboren na IVF. De beroepsgroepen voor gynaecologen (NVOG) en embryologen (KLEM) hebben recent afspraken gemaakt om bij toepassing van nieuwe technieken in behandelingen, zoals vitrificatie van eicellen, MESA en TESE en PGD, in het kader van onderzoek kinderen te volgen. Hiermee hoopt de beroepsgroep meer gegevens te verzamelen over mogelijke langetermijneffecten van de in de behandelingen gebruikte technieken.

6.3 Voorkomen genetische aandoeningen

6.3.1 "Redelijke verwachting komende jaren relevante klinische toepassing"

Een belangrijke, nieuwe ontwikkeling op het gebied van PGD is 'next generation sequencing' (NGS). De termijn waarop deskundigen in Nederland klinische toepassing verwachten is niet eenduidig; sommigen geven aan dat NGS binnen enkele jaren toegepast kan worden, anderen dat het juist nog 'ver weg' is. In enkele landen in Europa, zoals Polen, wordt de techniek al aangeboden. De techniek biedt mogelijkheden om snel en relatief goedkoop het hele genoom van het embryo te onderzoeken op genetische afwijkingen, maar zal wel gericht moeten worden toegepast (onderzoek naar één bekende genetische afwijking). De Nederlandse deskundigen achten een goede evaluatie van de toepasbaarheid van deze techniek van belang omdat in het verleden is gebleken dat nieuwe PGD-technieken niet altijd tot meer succesvolle zwangerschappen leidden [132].

De techniek voor het voorkomen van erfelijke mitochondriale aandoeningen, mitochondriale vervanging of donatie, wordt door het expertpanel van de Human Fertilisation and Embryology Authority *(*HFEA*)* in het Verenigd Koninkrijk als 'niet onveilig' en 'potentieel nuttig' beoordeeld. Het expertpanel verwacht dat de ontwikkeling rondom deze techniek de komende jaren snel zal gaan. Hoewel er in het buitenland (Verenigd Koninkrijk en de Verenigde Staten) goed onderzoek wordt gedaan op dit terrein, menen de geraadpleegde Nederlandse deskundigen dat deze techniek niet binnen afzienbare tijd beschikbaar komt voor patiënten in Nederland, omdat de techniek zeer complex is. Ook de HFEA geeft aan dat momenteel slechts één onderzoeksgroep in het Verenigd Koninkrijk waarschijnlijk in staat is deze techniek in de nabije toekomst te kunnen aanbieden aan patiënten [126].

6.3.2 "Gebruik en totstandbrenging van embryo's"

Het onderzoek ten behoeve van de evaluatie van NGS kan waarschijnlijk met restembryo's of tijdens bestaande IVF-behandelingen plaatsvinden.

Het onderzoek naar mitochondriale vervanging of donatie vraagt om het speciaal kweken van embryo's. Dit onderzoek vindt nu in het Verenigd Koninkrijk en de Verenigde Staten plaats. Veiligheidsstudies zijn voor de technieken extra belangrijk omdat falen van de technieken grote gevolgen kan hebben voor een kind. De Nederlandse deskundigen menen dat het huidige onderzoek naar mitochondriale vervanging of donatie goed en zorgvuldig gebeurt en niet noodzakelijk in Nederland hoeft plaats te vinden. Mocht deze techniek in Nederland geïntroduceerd worden, dan zal dat het speciaal kweken voor onderzoek voor een korte periode wel noodzakelijk maken, zodat Nederlandse onderzoekers/embryologen zich de techniek eigen kunnen maken.

Tabel I. Samenvatting onderzoeksgebieden, bron embryo's of cellen en gevolgen voor inzicht en toepassing in Nederland.

	Klinische toepassing te verwachten binnen een geschatte termijn van 5 - 15 jaar [a]	**In onderzoek gebruikte embryo's en cellen**	**Speciaal kweken noodzakelijke voorwaarde voor/in onderzoek?**	**Beperkingen voor klinische toepassing in Nederland?**
Transplantatiegeneeskunde				
Fundamenteel onderzoek pluripotentie	Niet van toepassing	Speciaal gekweekte embryo's en restembryo's, stamcellijnen, iPSC	Essentieel voor onderzoek naar pluripotentie van stamcellen of naar epigenetische stabiliteit van het genoom van hESC	Niet van toepassing
Op hESC gebaseerde therapieën	Therapieën voor maculadegeneratie, diabetes mellitus type I, ziekte van Parkinson en bij dwarslaesie	Vooral cellijnen van restembryo's	Nee [b]	Nee
Op iPSC gebaseerde therapieën en technieken	Patiënt-specifieke cellijnen voor celtherapieën Cellijnen voor geneesmiddelenonderzoek Therapieën voor o.a. maculadegeneratie, neurodegeneratieve aandoeningen, cardiovasculaire ziekten	Niet van toepassing	Niet van toepassing	Niet van toepassing
Voortplantingsgeneeskunde – kunstmatige voortplantingstechnieken				
Fundamenteel onderzoek voortplantings-geneeskunde	Niet van toepassing	Speciaal gekweekte embryo's en restembryo's	Ja, essentieel voor onderzoek naar totipotentie, pluripotentie, embryonale ontwikkeling	Niet van toepassing
Ontwikkeling van geslachtscellen	Geslachtscellen uit ingevroren testis- of ovariumweefsels Technieken met chirurgische verkregen zaadcellen Op langere termijn: in vitro maturatie van eicellen en geslachtscellen uit stamcellen	Dierstudies, speciaal gekweekte embryo's en restembryo's	Om te onderzoeken of gezonde embryo's voortkomen uit ontwikkelde geslachtscellen Eventuele toepassing is niet binnen 10-20 jaar te verwachten	Ja
Verbeteren van bestaande technieken	Verbeterde embryo-kweekomstandigheden Verbeterde embryo-opslag	Restembryo's, bestaande IVF-behandelingen en in mindere mate speciaal gekweekte embryo's	Nee	Nee
Beoordelen van embryokwaliteit	Time-lapsing Andere technieken zoals beoordelen van extracellulaire lichamen	Restembryo's en bestaande IVF-behandeling	Nee, technieken zijn non-invasief en schaden embryo's zeer waarschijnlijk niet	Nee
Voortplantingsgeneeskunde – voorkomen van erfelijke of aangeboren aandoeningen				
Embryoselectie ter voorkoming van erfelijke afwijkingen	-	Restembryo's en bestaande IVF-behandelingen	Nee, non-invasieve technieken die embryo's	Nee

			waarschijnlijk niet schaden [c]	
Voorkomen van mitochondriale aandoeningen	Mitochondriale vervanging of donatie	Dierstudies en speciaal gekweekt	Om te testen of er gezonde embryo's met gezonde mitochondriën ontstaan zijn speciaal gekweekte embryo's essentieel	Ja

[a] Onder het voorbehoud dat er studies zullen zijn met positieve resultaten. Bovendien zullen niet alle studies leiden tot daadwerkelijke toe te passen therapie vanwege de vele onzekerheden waarmee klinische studies gepaard gaan.
[b] Met in achtneming van de huidige stand van zaken, is het niet noodzakelijk om nieuwe embryonale stamcellen te verkrijgen uit speciaal gekweekte embryo's.
[c] Maar zou bij foutieve embryo-selectie wel tot minder zwangerschappen kunnen leiden omdat er minder embryo's teruggeplaatst worden.

6.4 Is in Nederland speciaal kweken een noodzakelijke voorwaarde voor klinische toepassing of het verkrijgen van inzichten?

Buiten de hierboven genoemde ontwikkelingen en de vraag of het een noodzakelijke voorwaarde is speciaal embryo's te kweken om deze technieken veilig in de kliniek te introduceren, kwam een aantal andere overwegingen rond het verbod op speciaal kweken tijdens het onderzoek naar voren.

6.4.1 Fundamenteel onderzoek

Een deel van het fundamenteel onderzoek dat verband houdt met de hiervoor beschreven ontwikkelingen kan onder de huidige wetgeving niet in Nederland uitgevoerd worden.
Om de vroege embryonale ontwikkeling te bestuderen is het nodig om een eicel te bevruchten en vervolgens de vroege ontwikkeling van blastocyst/embryo te volgen. Restembryo's zijn al meerdere dagen oud en voorbij dit stadium. Ook diermodellen bieden niet altijd uitkomst omdat het is gebleken dat de embryonale ontwikkeling van veel diersoorten slecht vergelijkbaar is.
Op het terrein van de hESC en de iPSC gaan de ontwikkelingen snel. In het verleden zijn er plotselinge doorbraken geweest, zoals de uitvinding van iPSC waardoor het onderzoeksveld in een stroomversnelling raakte. Er wordt inmiddels onderzoek gedaan naar de therapeutische toepassingen van hESC en iPSC, terwijl nog veel basale kennis over deze stamcellen ontbreekt. Er is weinig bekend over hoe de cellen in het vroege embryo met elkaar communiceren. Deze kennis is van belang omdat het de onderzoekers in staat stelt beter te begrijpen welke mogelijkheden pluripotente stamcellen hebben. Een ander onderwerp is de regulatie van epigenetische factoren in een cel die meebepalen hoe stabiel een cel is. Dit fundamenteel onderzoek is van belang voor het veilig gebruik van de stamcellen in de klinische praktijk.

6.4.2 Is er risico op een kennisachterstand?

Nederlandse onderzoekers ervaren niet zozeer een kennisachterstand vanwege het verbod op speciaal kweken. Nieuwe kennis wordt immers internationaal gedeeld op congressen en via wetenschappelijke publicaties. Er kan echter wel een achterstand in vaardigheden optreden. Maar in zijn algemeenheid geldt, los van het verbod op speciaal kweken, dat als technieken of behandelingen buiten Nederland worden ontwikkeld, Nederlandse clinici een periode nodig zullen hebben om deze nieuwe technieken of behandelingen onder de knie te krijgen. Dit was bijvoorbeeld ook het geval na de ontdekking van iPSC. Het kostte Nederlandse onderzoekers bijvoorbeeld een paar jaar voordat zijzelf iPSC konden kweken. Om Nederlandse onderzoekers de mogelijkheid te geven vaardigheden op te doen voor bepaalde technieken is in sommige gevallen het speciaal kweken van embryo's nodig. Deze situatie zou bijvoorbeeld ontstaan als mitochondriale vervanging of donatie in Nederland toegepast zou worden.

6.4.3 Worden veelbelovende klinische toepassingen de Nederlandse patiënt onthouden?

Een aantal ontwikkelingen in de transplantatiegeneeskunde is veelbelovend, zoals therapieën voor maculadegeneratie of diabetes mellitus type I. Als therapieën met behulp van hESC- of iPSC-cellijnen worden ontwikkeld, zijn er in principe geen speciaal gekweekte embryo's nodig en loopt de Nederlandse

patiënt geen risico om therapieën onthouden te worden om reden van het verbod op speciaal kweken van embryo's.

Als therapie voor mitochondriale aandoeningen via mitochondriale donatie in de kliniek toegepast kan worden en men deze behandeling ook in Nederland zou willen introduceren, zal tijdelijk het speciaal kweken van embryo's nodig zijn, zodat Nederlandse artsen/onderzoekers zich deze techniek eigen kunnen maken en veilig kunnen toepassen. Dit zou momenteel niet mogelijk zijn vanwege het verbod op speciaal kweken. Op welke termijn deze techniek klinisch toegepast zou kunnen worden is echter niet duidelijk, hoewel men in het Verenigd Koninkrijk verwacht dat de ontwikkelingen in snel tempo zullen gaan; de Nederlandse deskundigen verwachten niet dat de techniek binnen afzienbare tijd beschikbaar komt. De techniek is complex en ook in het Verenigd Koninkrijk kan waarschijnlijk slechts één onderzoeksgroep de techniek aanbieden [123].

Overzichtstabel I - Therapieën en technieken gebaseerd op hESC

Categorie ontwikkeling	**Ontwikkeling**	**Beschrijving van de ontwikkeling**	**Ziekte of aandoening waarvoor therapie of diagnostiek beschikbaar zou komen**	**Fase van de ontwikkeling**	**Type embryo gebruikt in onderzoek**	**Referentie** **Zoekstrategie** (gevonden via)
Therapie gebaseerd op hESC	**GRNOPC1-therapie**	Studie om de veiligheid van GRNOPC1-therapie bij patiënten met een dwarslaesie vast te stellen. GRNOPC1-therapie bevat hESC-afgeleide oligodendrocyt voorlopercellen; N=4 patiënten hebben een dosis van 2 miljoen cellen ontvangen zonder complicaties of negatieve effecten.	**Dwarslaesie** Gevoel in de benen en de mogelijkheid om weer te lopen	**Fase I Klinische studie** - Start: oktober 2010 - Gestopt (door financiële problemen en regelgevende kwesties) in november 2011 [1, 2]	Bron van humane embryo's niet bekend	Geron [30] Via: ISSCR website [12]
	AST-OPC1 cellen	Studie om de veiligheid van AST-OPC1 cellen bij 13 patiënten met dwarslaesie vast te stellen. AST-OPC1 is een follow-on van de klinische studie van Geron (GRNOPC-1), welke in 2011 gestopt is. Dezelfde cellen worden gebruikt (hESC-afgeleide oligodendrocyt voorlopercellen); in deze studie worden 10 keer zoveel cellen gebruikt als in de trial van Geron.	**Dwarslaesie** Gevoel in de benen en de mogelijkheid om weer te lopen	**Fase I/IIa Klinische studie** - Start: begin 2015 - Studievoltooiing niet bekend	Bron van humane embryo's niet bekend	Stem Cells Portal (september 2014) [28] Asterias Biotherapeutics Inc. (augustus 2014) [133] Via: Grijze literatuur
	MA09-hRPE cellulaire therapie	Studie om de veiligheid en verdraagbaarheid van sub-retinale transplantatie met Retinal Pigmented Epithelial (MA09-hRPE)-cellen afkomstig van hESC te testen in patiënten met droge leeftijdsgebonden maculadegeneratie.	**Droge leeftijdsgebonden maculadegeneratie** Herstel van het zicht	**Fase I/II Klinische studie** - Start: september 2012 - Geschatte studievoltooiing in april 2016	Bron van humane embryo's niet bekend	ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01674829 [14] Via: ClinicalTrials.gov [134]
		Studie om de veiligheid en verdraagbaarheid van sub-retinale transplantatie met Retinal Pigmented Epithelial (MA09-hRPE)-cellen afkomstig van hESC te testen in patiënten met droge leeftijdsgebonden maculadegeneratie. <u>Resultaat</u>: transplantaties zijn succesvol en meer dan de helft van patiënten heeft een significante verbetering van het zicht.	**Droge leeftijdsgebonden maculadegeneratie** Herstel van het zicht	**Fase I/II Klinische studie** - Start: april 2011 - Geschatte studievoltooiing in december 2014	hESC-lijn*; om een master-celbank te genereren	ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01344993 [16]; Schwartz S.D. et al. (2012) [15]; Schwartz S.D. et al. (2014) [20] Via: ClinicalTrials.gov [134]

Categorie ontwikkeling	**Ontwikkeling**	**Beschrijving van de ontwikkeling**	**Ziekte of aandoening waarvoor therapie of diagnostiek beschikbaar zou komen**	**Fase van de ontwikkeling**	**Type embryo gebruikt in onderzoek**	**Referentie** **Zoekstrategie** (gevonden via)
		Studie om de veiligheid en verdraagbaarheid van sub-retinale transplantatie met Retinal Pigmented Epithelial (MA09-hRPE)-cellen afkomstig van hESC te testen in patiënten met myope maculadegeneratie.	**Myope maculadegeneratie** Herstel van het zicht	**Fase I/II Klinische studie** - Start: april 2014 - Geschatte studievoltooiing in april 2015	hESC lijn*; om een master-celbank te genereren	ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02122159 [18] Via: ClinicalTrials.gov [134]
		Studie om de veiligheid en verdraagbaarheid van een sub-retinale transplantatie met Retinal Pigmented Epithelial (MA09-hRPE) cellen afkomstig van hESC te testen in patiënten met Stargardt maculadystrofie. <u>Resultaat</u>: transplantaties zijn succesvol en meer dan de helft van patiënten heeft een significante verbetering van het zicht.	**<u>Erfelijke aandoening</u>:** Stargardt maculadystrofie Behandeling van disfunctioneren en degeneratie van retinacellen	**Fase I/II klinische studie** - Start: april 2011 - Geschatte studievoltooiing in december 2014	hESC lijn*; om een master-celbank te genereren	ACT [135]; Schwartz S.D. et al. (2012) [15]; Schwartz S.D. et al. (2014) [20] Via: ISSCR website [12]; UCL website [136] ClinicalTrials.gov [134] (NCT01345006 NCT01469832)
		Studie om de veiligheid en verdraagbaarheid van sub-retinale transplantatie met Retinal Pigmented Epithelial (MA09-hRPE)-cellen afkomstig van hESC te testen in patiënten met Stargardt maculadystrofie.	**<u>Erfelijke aandoening</u>:** Stargardt maculadystrofie Behandeling van disfunctioneren en degeneratie van retinacellen	**Fase I klinische studie** - Start: september 2012 - Geschatte studievoltooiing in oktober 2014 (niet bekend of studie al afgerond is)	Bron van humane embryo's niet bekend	ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01625559 [19] Via: ClinicalTrials.gov [134]
Therapie gebaseerd op hESC	**Pf-05206388**	Studie naar de veiligheid en verdraagbaarheid van een implantaat van Pf-05206388, een membraan met van hESC afkomstig Retinal Pigment Epithelium living tissue equivalent in het oog van patiënten met natte leeftijdsgebonden maculadegeneratie en recente snelle visuele achteruitgang.	**Natte leeftijdsgebonden maculadegeneratie en recente snelle visuele achteruitgang** Herstel van het zicht	**Fase I Klinische studie** - Start: februari 2015 - Geschatte studievoltooiing in juni 2017	Bron van humane embryo's niet bekend	ClinicalTrials.gov identifier: NCT01691261 [17] Via: ClinicalTrials.gov [134]

Categorie ontwikkeling	Ontwikkeling	Beschrijving van de ontwikkeling	Ziekte of aandoening waarvoor therapie of diagnostiek beschikbaar zou komen	Fase van de ontwikkeling	Type embryo gebruikt in onderzoek	Referentie **Zoekstrategie** (gevonden via)
Therapie gebaseerd op hESC	**hESC CD15+ Isl-1+ Progenitors**	Studie naar de veiligheid en verdraagbaarheid van transplantatie met 'cardiac-committed' voorlopercellen (progenitors) afkomstig van hESC bij patiënten met ernstig hartfalen.	**Ernstig hartfalen**	**Fase I Klinische studie** - Start: juni 2013 - Geschatte studievoltooiing in juni 2016	Bron van humane embryo's niet bekend	ClinicalTrials.gov identifier: NCT02057900 [35] Via: ClinicalTrials.gov [134]
Therapieën gebaseerd op hESC	Van stamcellen afgeleide humane insuline-producerende bètacellen	Uit hESC worden humane insuline-producerende bètacellen gemaakt die in alles lijken op normaal-functionerende bètacellen. De cellen kunnen gegenereerd worden zonder genetische modificatie en in grote aantallen. Trials in vitro en in vivo posttransplantatie (muizenmodel).	**<u>Erfelijke aandoening</u>:** Diabetes Mellitus type I	**Preklinische studie** Preklinische studies zijn bijna afgerond [137]	hESC-lijn verkregen van de 'NIH human embryonic stem cell registry', VS	Pagliuca FW et al. (groep Doug Melton) (2014) [22] Via: ISSCR website [12]; HSCI website [137]
		ViaCyte (commercieel bedrijf): <u>PEC-01 cellen</u>: een gepatenteerd pancreas-endodermcel-product door gerichte differentiatie afgeleid van een humane embryonale stamcellijn.	**<u>Erfelijke aandoening</u>:** Diabetes Mellitus type I	**Preklinische studie** In augustus 2014 ontving ViaCyte goedkeuring van de FDA om met een Fase I/II klinische studie te beginnen; deze zou tot/met 2016 lopen.	hESC-lijn*	Fox C. (2014) [138]; ViaCyte (2014)[139]; D'Amour K.A. et al. (2006) [23]; Via: Google
		BetaLogics (commercieel bedrijf): Publiceerde in Nature een protocol dat het mogelijk maakt om op een efficiënte manier hESC om te zetten in insuline-producerende cellen.	**<u>Erfelijke aandoening</u>:** Diabetes Mellitus type I	**Preklinische studie**	hESC-lijn verkregen van 'WiCell Research Institute, Inc.', VS	Fox C. (2014) [138]; Rezania A. et al. (2014) [24] Via: Google
Therapie gebaseerd op hESC	Hartspier-cellen gemaakt uit hESC	In het LUMC (NL) is het onderzoekers gelukt om hartspiercellen te maken vanuit hESC; ze waren de eersten die dit type cellen gebruikten bij muizen met een hartaanval.	**Hart- en vaatziekten**	**Preklinische studie**	hESC lijnen*	EuroStemCell website [34] Via: EuroStemCell website [34]

Categorie ontwikkeling	Ontwikkeling	Beschrijving van de ontwikkeling	Ziekte of aandoening waarvoor therapie of diagnostiek beschikbaar zou komen	Fase van de ontwikkeling	Type embryo gebruikt in onderzoek	Referentie Zoekstrategie (gevonden via)
Therapie gebaseerd op hESC	hESC-gemedieerde reparatie van het binnenoor	Onderzoekers (VK) ontwikkelden een protocol voor het ingang zetten van de differentiatie van hESCs naar otische placodecellen; ze verkregen twee typen otische voorloopcellen met de mogelijkheid zich in vitro te differentiëren naar haarcel-achtige cellen en auditieve neuronen, beide met naar verwachting elektrofysiologische eigenschappen.	**Doofheid** Herstel van vermogen om te horen	**Preklinische studie**	hESC lijnen*	Chen et al. (2012) [32] Via: Research Councils UK (2012) [131]
Therapie gebaseerd op hESC	Transformatie van hESC in dopamine-producerende neuronen	Met behulp van hESC- en iPS-cellijnen zijn succesvol in vitro dopamine-producerende neuronen gekweekt. Om de kwaliteit van de verkregen cellen te testen zijn ze in diermodellen met de ziekte van Parkinson overgebracht. In de dieren bleven de cellen goed functioneren.	**Neurodegeneratieve aandoeningen, zoals de ziekte van Parkinson**	**Preklinische studie** De onderzoekers hopen in 2015 met klinische studies te beginnen	hESC-lijnen*	Kriks et al. (2011) [26] Via: EuroStemCell website [34]
		hESC zijn gekweekt tot dopamine-producerende neuronen en ingebracht in beschadigde rattenhersenen. De ingebrachte cellen waren in staat de schade te herstellen.	**Ziekte van Parkinson** De schade veroorzaakt door de ziekte van Parkinson te genezen	**Preklinische studie** Het testen in klinische studies kan 2017 beginnen	hESC-lijnen*	BBC (november 2014) [140]; Grealish S. et al. (2014) [27] Via: Grijze literatuur
Therapie gebaseerd op hESC	Levercellen gemaakt van hESC	Kweken van levercellen uit hESC en de ontwikkeling van betrouwbare methoden om dit te doen. De gekweekte levercellen gedragen zich vergelijkbaar met levercellen in het menselijk lichaam.	**Leverziekten**	**In vitro onderzoek**	Bron van humane embryo's niet bekend	Szkolnicka D. et al. (2014) [36]; EuroStemCell website [34]
Preventie gebaseerd op hESC	AST-VAC2 vaccin	AST-VAC2 is een niet-patiëntspecifiek (allogeen) kankervaccin, ontwikkeld uit hESCs om het immuunsysteem van de patiënt te stimuleren om telomerase te bestrijden. Telomerase is een eiwit dat een rol speelt bij kankerontwikkeling, maar zelden in gezonde volwassen lichaamscellen. In een klinische studie zal worden gekeken naar de veiligheid, toxiciteit en toepasbaarheid van het vaccin bij patiënten met geopereerde vroegstadium longkanker en patiënten met vergevorderde stadia van de ziekte.	**Kanker (longkanker)** Stimulatie van het immuun-systeem	**Fase I Klinische studie**	hESC-lijnen*	Center Watch (2014) [40]; Nishimoto K.P. et al. (2011) [37]; Tseng S.Y. et al. (2009) [38] Via: Center Watch – clinical trials register [141]

Categorie ontwikkeling	Ontwikkeling	Beschrijving van de ontwikkeling	Ziekte of aandoening waarvoor therapie of diagnostiek beschikbaar zou komen	Fase van de ontwikkeling	Type embryo gebruikt in onderzoek	Referentie Zoekstrategie (gevonden via)
Gameet-ontwikkeling uit hESC	Identificatie van factoren voor kiemcel-ontwikkeling	Het doel van deze studie is: 1. om humane embryonale cellijnen op te zetten. 2. de factoren te bestuderen die bijdragen aan de differentiatie naar geslachtscellen.	**Onvruchtbaarheid**	**In vitro onderzoek** - Start: oktober 2010 - Geen informatie over het eind van de studie Fundamenteel onderzoek naar kiemcelontwikkeling	Humane gedoneerde embryo's	ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01165918 [142] Via: ClinicalTRials.gov [134]
	In vitro verkregen gameten	Het in vitro kweken van gameten (mannelijke en vrouwelijke geslachtscellen) uit hESC; de veiligheid van de gekweekte gameten is nog onbekend.	**Onvruchtbaarheid** - Om mannen/vrouwen die zelf geen sperma/eicellen kunnen produceren, de mogelijkheid te geven genetisch-eigen kinderen te krijgen - Gentherapie, diagnose - Toxicologische testen	**Preklinische studie** Start: 2008 Volgens de onderzoekers duurt het nog minstens 5-10 jaar voordat eicellen/sperma kunnen worden ontwikkeld voor therapieën	Muizenembryo 's; bron van humane embryo's niet bekend	Kerkis et al. (2008) [92]; West F. et al. (2008) [93] Via: HFEA website [13]
hESC-differentiatie	Onderzoek van (Epi) genetische stabiliteit	De stabiliteit van het genoom van hESC zal onderzocht worden. Dit is belangrijk, omdat als deze cellen ooit in celtherapie worden gebruikt, de veiligheid voor de ontvanger gewaarborgd moet zijn. Het gedrag van dynamische mutaties zal worden onderzocht in gameten en pre-implantatie embryo's (als in vivo model) en in hESC (als in vitro model).	**Erfelijke aandoeningen:** Patiënten met dynamische mutaties (bijv. myotone dystrofie (DM1)) Veiligheid van het gebruik van hESC	**In vitro onderzoek** - Studie van 23/05/2008 tot 23/05/2012 Fundamenteel onderzoek	Speciaal gekweekte humane embryo's	Aanvraag studie bij Belgische federale commissie voor medisch en wetenschappelijk onderzoek op embryo's in vitro (FCE) – toegewezen Via: FCE website [100]
ESC-ziektemodel en/of therapieën/ medicijn-	Ziektemodel gebaseerd op embryonale stamcellen	Ziektemodellen met gekweekte cellen zouden in de farmaceutische industrie gebruikt kunnen worden om nieuwe geneesmiddelen te ontwikkelen en te testen. In sommige gevallen zouden ze ervoor kunnen zorgen dat het aantal proefdieren dat nodig is bij	**Alzheimer, ziekte van Parkinson, Diabetes, Amyotrofische laterale sclerose (ALS), etc.**	**In vitro onderzoek** Lopend	Bron van embryo's niet bekend	ZonMw (2014) [11] Via: ISSCR website [12]; HFEA website [2];

Categorie ontwikkeling	Ontwikkeling	Beschrijving van de ontwikkeling	Ziekte of aandoening waarvoor therapie of diagnostiek beschikbaar zou komen	Fase van de ontwikkeling	Type embryo gebruikt in onderzoek	Referentie Zoekstrategie (gevonden via)
ontwikkeling		geneesmiddelenonderzoek kan verminderen.	**Erfelijke aandoeningen:** Mono-genetische aandoeningen			ZonMw website [143]; FCE website [100]
Therapeu-tisch klonen	Het creëren van patiënt-specifieke stamcellen via 'somatic cell nuclear transfer' (SCNT)	In dit onderzoek wordt beschreven hoe via SCNT een stamcellijn is gecreëerd van een patiënt met diabetes type I. Het lukte daarna om deze cellen door te ontwikkelen tot insuline-producerende bètacellen.	**Erfelijke aandoening:** Diabetes Mellitus type I Celtherapie van verschillende ziekten of aandoeningen	**In vitro onderzoek**	Gedoneerde humane oocyten	Yamada M et al. (2014) [43] Via: PubMed
	Organen gekweekt met behulp van chimaera	Onderzoekers is het gelukt om organen (functionerende alvleesklier) met behulp van chimaera te kweken.	**Verschillende ziektes**	**In vitro onderzoek**	Dierenembryo's en oocyten	Matsunari et al. (2013) [46] Via: Grijze literatuur

ACT: Advanced Cell Technology; BBC: British Broadcasting Corporation, VK; ESC: embryonale stamcellen; FCE: Federale Commissie voor medisch en wetenschappelijk onderzoek op Embryo's *in vitro*, Belgie; FDA:Food and Drug Administration, VS; hESC: humane embryonale stamcellen; HFEA: Human Fertlisation & Embryology Authority, VK; HSCI: Havard Stem Cell Institute, VS; iPSC: geïnduceerde pluripotente stamcellen; ISSCR: International Society of Stem Cell Research ; LUMC: Leids Universitair Medisch Centrum; NL: Nederland; UCL: University College London, VK.
* hESC-lijnen waarschijnlijk verkregen van restembryo's.

Overzichtstabel II – Therapieën en technieken gebaseerd op iPSC

Categorie ontwikkeling	Ontwikkeling	Beschrijving van de ontwikkeling	Ziekte of aandoening waarvoor therapie of diagnostiek beschikbaar zou komen	Fase van de ontwikkeling	Bron **Zoekstrategie** (gevonden via)
Therapie gebaseerd op iPSC	Retinaal pigmentepithe el (RPE)-cellen gemaakt van iPSC	Vorming van autologe geïnduceerde pluripotente stamcellen van iedere deelnemer, die vervolgens worden gevormd tot RPE met een nieuwe technologie waarmee deze epitheelcellen in monolaag-celsheets (monolayer cell sheets) worden getransplanteerd, zonder dat daar synthetische hulpmiddelen of matrices voor nodig zijn. Onderzoek (Japan) naar veiligheid en haalbaarheid van deze techniek.	**Natte leeftijdsgebonden maculadegeneratie** Behandeling van blindheid	**Klinische studie** - Start: augustus 2013 - Follow-up vier jaar (tot/met aug 2017)	Stem Cells Translational Medicine (2014) [70] Via: Google
	Dopamine-gerelateerde neuronen gemaakt van iPSC	Het creëren van iPS-cellen afkomstig van de patiënt (waarschijnlijk uit het bloed), die vervolgens geïnduceerd worden tot precursors van dopamine-gerelateerde neuronen; deze precursors zullen daarna geïmplanteerd worden in de hersenen van de patiënt.	**Ziekte van Parkinson**	**Preklinische studie** <u>In 2016</u> te beginnen met klinische studies	RVO.nl (2014) [71] Santa Fe New Mexican (2014) [144] Via: Google
	Bloedvaten gemaakt met iPS-cellen	Onderzoekers (VS) zijn erin geslaagd om bloedvaten te maken van geïnduceerde pluripotente stamcellen afgeleid van volwassen huidcellen van gezonde volwassenen en van individuen met type I diabetes. De cellen zijn daarna geïmplanteerd op het oppervlak van de hersenen van muizen. De werkende bloedvaten konden negen maanden overleven.	**<u>Cardiovasculaire ziektes</u>** – Hart- en vaatziekten	**Preklinische studie**	Samuel R. et al. (2013) [77] Via: HSCI website [137]
	iPSC-afgeleide vasculaire endotheliale cellen	Verschillende studies melden dat de functionaliteit van iPSC afgeleide vasculaire endotheliale cellen is aangetoond via in vitro celkweken en in vivo diermodellen.	**<u>Cardiovasculaire ziekten</u>** – Hart- en vaatziekten (vasculaire endotheliale aandoeningen) Nieuwe bloedvaten, endotheelcellen transplantatie in het hart voor myocardiale regeneratie, behandeling van regionale ischemie	**Preklinische studies**	Adams W.J. et al. (2013) [73]; Orlova V.V. et al. (2014) [74]; Lian X. et al. (2014) [75]; Otha et al. (2014) [76] Via: ISSCR website [12]; ISSCR conference 2014 [145]

Categorie ontwikkeling	Ontwikkeling	Beschrijving van de ontwikkeling	Ziekte of aandoening waarvoor therapie of diagnostiek beschikbaar zou komen	Fase van de ontwikkeling	Bron **Zoekstrategie** (gevonden via)
	Tumor targeted natural killer (NK) cells afgeleid van iPSC	Om de anti-tumoractiviteit van CD19CAR-iPSC-NK in vivo te testen, zijn muizen ingespoten met humane CD19+ B lymphoma Raji-cellen. Drie dagen nadat de tumoren waren vastgesteld, zijn de anti-CD19CAR-iPSC-NK-cellen geïnjecteerd. De tumoren zijn wekelijks geëvalueerd. Tumorgroei was aanzienlijk vertraagd in muizen die met anti-CD19CAR-iPSC-NK cellen werden behandeld.	**Verschillende soorten tumoren** Celgebaseerde gen/ immunotherapie	**Preklinische studie**	Ni Z. et al. (2014) [79] Via: ISSCR conference 2014 [145]
	Mesoangioblast (MAB)-cellen gemaakt op basis van iPSC	Het transformeren van iPS-cellen (afkomstig uit huidcellen van de patiënt) naar gezonde MAB-cellen. Het injecteren van deze cellen in muizen liet zien dat de dieren meer spierkracht hadden, in staat waren om meer te doen en ze produceerden normale spiereiwitten.	**Erfelijke aandoening:** Spierdystrofie	**Preklinische studie** Vroege studie; nog veel onderzoek nodig [34]	Groep van Francesco Tedesco; EuroStemCell website [34] Via: EuroStemCell website [34]
	iPSC gemedieerde reparatie van genetische leverziekte	Patiënten met α1-antitrypsinetekort (A1ATD) hebben een leverziekte. Er is geen andere therapie mogelijk dan een levertransplantatie. In deze studie is geprobeerd om humane iPS-cellen genetisch te corrigeren zodat de structuur en functie van A1AT hersteld werd. Daarna zijn van deze iPSC functionerende levercellen gemaakt en in vitro en in vivo (in muizen) getest. Resultaat: eerste bewijs voor de mogelijkheid (proof of principle) om humane geïnduceerde pluripotente stamcellen met een genetische correctie te gebruiken om klinisch relevante cellen voor autologe cel-gebaseerde therapieën te genereren.	**Erfelijke aandoening:** Genetische leverziekte	**Preklinische studie**	Yusa K. et al. (2011) [80] Via: Research Councils UK (2012) [131]
	Genetisch gezonde huidcellen gemaakt op basis van iPSC	Drie onderzoekteams (1. VS, NL, JP; 2. VS; 3. AUT, DE) hebben een aantal stappen gezet (lab- en dierstudies) naar het gebruik van iPSC voor de behandeling van Epidermolysis bullosa. Alle drie onderzoeksgroepen gebruiken huidcellen van	**Erfelijke aandoening:** Epidermolysis bullosa (huidziekte)	**Preklinische studie** Onderzoekers hebben nog niet het juiste recept	Wenzel D. et al. (2014) [81]; Sebastiano V. et al. (2014) [82]; Umegaki-Arao N. et al. (2014) [83] Via: Grijze literatuur

Categorie ontwikkeling	Ontwikkeling	Beschrijving van de ontwikkeling	Ziekte of aandoening waarvoor therapie of diagnostiek beschikbaar zou komen	Fase van de ontwikkeling	Bron **Zoekstrategie** (gevonden via)
		patiënten om de stamcellen te bereiden. Twee groepen corrigeerden het genetisch defect en kweekten er vervolgens gezonde huid uit. Dat die gezond was, bleek na transplantatie ervan naar muizen. De derde groep ging uit van spontaan genezen huidcellen, maar volgde verder globaal dezelfde werkwijze.		gevonden voor de productie van humane huidcellen die langer leven dan een paar weken	
	Neuronen afgeleid van patiënt iPSC	De vele onafhankelijke mutaties die ALS veroorzaken hebben mogelijk als overeenkomst dat ze abnormaal hoge activiteit in motorneuronen kunnen opwekken. In vitro verminderde anti-epilepsiemedicatie de hyperexcitabiliteit van motorneuronen die gemaakt waren uit iPSC afkomstig van huidcellen van ALS-patiënten.	**Amyotrofe laterale sclerose (ALS)**	**In vitro klinische studie** Goedkeuring voor klinisch onderzoek om de veiligheid van de behandeling in ALS-patiënten te testen	Wainger B.J. et al. (2014) [72]; Havardgazette (april 2014) [146] Via: International Stem Cell forum – symposium
	Wijzingen van het genoom van iPSC zodat deze cellen een natuurlijke mutatie ondergaan	Het wijzigen van het genoom van geïnduceerde pluripotente stamcellen, zodat deze een natuurlijke mutatie ondergaan waardoor het hiv zich niet aan de cellen kan hechten. De onderzoekers (VS) gebruiken een methode waarbij ze in staat zijn om een deel van een DNA-sequentie te verwijderen en daarna te vervangen met een nieuwe sequentie. Deze methode is gebaseerd op de genetische code van individuen die resistent zijn voor hiv.	**HIV**	**In vitro onderzoek** De onderzoekers hopen op termijn een behandeling te ontwikkelen waarbij ze hiv-geïnfecteerden kunnen genezen door het inbrengen van de pluripotente stamcellen.	Metro (juni 2014) [147]; Ye L. et al. (2014) [85] Via: Google
iPSC-technologie algemeen	Directe herprogramme ring	Een van de recentste ontwikkelingen (2012) met iPS-cellen is directe herprogrammering; hierbij worden volwassen cellen geherprogrammeerd tot een ander celtype zonder deze eerst terug te brengen tot een pluripotente staat. Voorbeeld: onderzoekers (UCSF, VS) is het gelukt om hartfibroblasten direct te programmeren naar werkende hartspiercellen in dierenharten.	**Meerdere ziektes en aandoeningen** Verbetering van de iPSC-productie	**Preklinische studie**	UCSF (oktober 2012) [48] Via: Google

Categorie ontwikkeling	**Ontwikkeling**	**Beschrijving van de ontwikkeling**	**Ziekte of aandoening waarvoor therapie of diagnostiek beschikbaar zou komen**	**Fase van de ontwikkeling**	**Bron** **Zoekstrategie** (gevonden via)
	Pluripotente stamcellen, ontstaan uit volwassen gespecialiseerde cellen, 'terugbrengen' tot de oorspronkelijke embryonale staat	Onderzoekers (DE, VK) zeggen erin geslaagd te zijn pluripotente stamcellen, ontstaan uit volwassen gespecialiseerde cellen, 'terug te brengen' tot de oorspronkelijke embryonale staat ('ground-state'). De onderzoekers gebruikten een nieuwe methode om volwassen cellen te herprogrammeren tot stamcellen; daarbij zorgden ze ervoor dat twee genen, NANOG en KLF2, geactiveerd werden. De cellen die uit deze herprogrammering voortkomen, lijken in staat te zijn zich tot elk celtype te ontwikkelen en zouden genetisch normaal zijn.	Fundamentele biologie om de vroege ontwikkeling van cellen te bestuderen	**In vitro onderzoek** Fundamenteel onderzoek	Synbio (september 2014) [148]; Takashima Y. et al. (2014) [49] Via: Google
	Systematische identificatie van barrières voor het genereren van iPSC	Herprogrammering van volwassenen (somatische) cellen tot geïnduceerde pluripotente stamcellen (iPSCs) houdt een belofte in voor de regeneratieve geneeskunde. Om endogene barrières te ontrafelen die dit proces beperken heeft een onderzoeksgroep humane cellulaire herprogrammering systematisch ontleed. Herprogrammeringsbarrières zijn geïdentificeerd, waaronder genen die betrokken zijn bij transcriptie, chromatineregulatie, vesiculair transport en celadhesie.	Deze resultaten geven een globaal beeld van de belemmeringen voor humane cellulaire herprogrammering.	**In vitro onderzoek** Fundamenteel onderzoek	Qin H. et al. (2014)[149] Via: Google
	Nieuw model om iPSC te genereren	Onderzoekers (HSCI, VS) zijn erin geslaagd om de snelst geïnduceerde pluripotente stamcellen (muis) ooit te kweken (48 uur in vergelijking met 2-4 weken) door het toevoegen van twee kleine moleculen aan de vier klassieke ''Ýamanaka factors' (de reprogrammeringsgenen om iPSC te genereren).	**Meerdere ziektes en aandoeningen** Verbetering van de iPSC-productie	**In vitro onderzoek** Fundamenteel onderzoek	Bar-Nur O. et al. (2014) [150] Via: HSCI website [137]
	Nieuw rekenmodel dat nauwkeurig kan voorspellen hoe stamcellen	Onderzoekers (Harvard Medical School, VS) hebben een uniek nieuw rekenmodel ontwikkeld dat nauwkeurig kan voorspellen hoe stamcellen beslissingen maken om het ene celtype te worden of het andere. In samenwerking met een onderzoeksteam van het Hubrecht Institute (NL) zullen zij deze algoritmes verder verfijnen en onderzoeken hoe specifieke weefsels, zoals	**Meerdere ziektes en aandoeningen** Verbetering van de iPSC-productie	**In vitro onderzoek** Fundamenteel onderzoek over hoe stamcellen beslissingen maken Model ontwikkeld in	Hubrecht Institute website [151] Via: Hubrecht Institute website [151]

Categorie ontwikkeling	Ontwikkeling	Beschrijving van de ontwikkeling	Ziekte of aandoening waarvoor therapie of diagnostiek beschikbaar zou komen	Fase van de ontwikkeling	Bron **Zoekstrategie** (gevonden via)
	beslissingen nemen om een celtype/een ander celtype te worden	lever, darm of alvleesklier, zich uit iPS-cellen ontwikkelen.		2013	
Patiënt- /ziekte-specifieke iPSC-stamcellijnen en ziekte-modellen	In vitro verkregen gameten	Het differentiëren tot primordiale kiemcellen (voorlopers van de geslachtscellen) van geïnduceerde pluripotente stamcellen.	**Onvruchtbaarheid**	**In vitro onderzoek**	Park T.S. et al. (2009)
	iPSC-afgeleide cardiomyocyten	Het differentiëren tot hartspiercellen van geïnduceerde pluripotente stamcellen verkregen van patiënten met reumatoïde artritis (RA) en osteoartritis (OA). Methode: vier klonen van iPSC zijn gegenereerd van synoviocyten (specifiek celtype binnen de gewrichten) van deze patiënten. De iPSC werden gedifferentieerd in hartspiercellen. Uiteindelijke toepassing: het modelleren van de ziekte of celtherapie.	**Patiënten met artritis met cardiovasculaire complicaties** Celtherapie	**In vitro onderzoek**	Jung S.M. et al. (2014) [51] Via: ISSCR conference 2014 [145]
	Van stamcellen afgeleide humane insuline-producerende bètacellen	Uit humane iPSC, verkregen van patiënten met diabetes of andere metabole aandoeningen, worden menselijke insuline-producerende bètacellen gemaakt die in alles lijken op normaal-functionerende bètacellen. De cellen kunnen gegenereerd worden zonder genetische modificatie en in grote aantallen.	**Erfelijke aandoening**: Diabetes Mellitus type I	**In vitro onderzoek**	Pagliuca FW et al. (groep Doug Melton) (2014) [22] Via: ISSCR website [12]; HSCI website [137]
	Humaan iPSC model afgeleid van patiënten met insuline-resistentie	Dit is een van de eerste studies naar een humaan iPSC-model voor type II diabetes. De onderzoekers (VS) maakten gebruik van fibroblasten afkomstig van drie patiënten met ernstige insulineresistentie. De insulineresistentie was veroorzaakt door genmutaties voor de insulinereceptor (IR). De fibroblasten zijn hergeprogrammeerd tot geïnduceerde pluripotente stamcellen.	**Diabetes type II**	**In vitro onderzoek** Volgende fase van het onderzoek is om lever-, spier- en vetcellen uit iPSC te maken	Iovino S. et al. (2014) [52] Via: HSCI website [137]

Categorie ontwikkeling	Ontwikkeling	Beschrijving van de ontwikkeling	Ziekte of aandoening waarvoor therapie of diagnostiek beschikbaar zou komen	Fase van de ontwikkeling	Bron Zoekstrategie (gevonden via)
		Er werd gekeken naar genactivatie in insuline-signaalroutes bij iPSC en fibroblasten met IR-mutaties, en bij overeenkomstige cellen afkomstig van mensen zonder deze mutaties.			
	iPSC-afgeleide osteoblasten	Differentiatie van geïnduceerde pluripotente stamcellen tot osteoblasten door middel van het toevoegen van vier kleine moleculen in het kweekmedium onder serumvrije en voedingsvrije condities. Dit biedt nieuwe mogelijkheden voor biologische studies naar osteoblastontwikkeling, patiëntgericht onderzoek met betrekking tot skeletaandoeningen, de screening van medicijnen voor bot-aangroei en de regeneratie van skeletweefsels.	**Skeletaandoeningen**	**In vitro onderzoek**	Kanke K. et al. (2014) [53] Via: ISSCR conference 2014 [145]
	iPSC uit Bloedcellen	Onderzoek naar nieuwe methoden om iPSC te ontwikkelen uit humane bloedcellen; het identificeren van betere manieren om iPSC te verzamelen, te produceren, en te laten groeien; en het maken van een iPSC-bank.	**Meerdere ziektes** Autologe/allogene therapie	**Klinische studie** - Start: januari 2014 - Geschatte studievoltooiing in januari 2019	ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02056613 [152] Via: ClinicalTrials.gov [134]
	iPSC-gebaseerde ziektemodellen	Verschillende studies rapporteren over iPSC-gebaseerde ziektemodellen. Deze ziektemodellen zijn ontwikkeld uit celkweken van huidbiopten, haren en/of bloed om verschillende aspecten te onderzoeken, zoals: de pathogenese van de ziekte; pathofysiologische mechanismen die betrokken zijn bij de ziekten en die ertoe leiden genetische merkers te identificeren; het evalueren van fenotypes; te begrijpen welke specifieke veranderingen in het DNA negatief effect hebben op de gezondheid van een persoon; inzicht krijgen in de cel van oorsprong; het karakteriseren van de cellulaire elektrofysiologie; genetische en cellulaire verschillen; genetische mutaties. iPSC worden ook gebruikt voor fundamenteel onderzoek	**Meerdere ziektes***	**In vitro onderzoek** Lopend	ClinicalTrials.gov Identifier [54-61]; Center Watch [62, 153]; Hubrecht Institute [63]; Yoshida T. et al. (2014) [64];Carroll J. (2012) [65] Via: ClinicalTrials.gov [134];Center Watch Clinical Trials [141]; ISSCR website [12];EuroStemCell website [34]; Google;HSCI website [137]; ISSCRconference 2014 [145]

Categorie ontwikkeling	Ontwikkeling	Beschrijving van de ontwikkeling	Ziekte of aandoening waarvoor therapie of diagnostiek beschikbaar zou komen	Fase van de ontwikkeling	Bron **Zoekstrategie** (gevonden via)
		en voor nieuwe therapieën/medicaties. Toekomst: Ontwikkeling van technologieën die uiteindelijk het gebruik van iPS-cellen voor transplantatie/celtherapie mogelijk maken.			
	Ziekte-specifieke stamcellijnen	HSCI (VS) produceerde 20 ziektespecifieke stamcellijnen. De cellijnen zijn waardevol voor het onderzoeken van de diepere oorzaken van de ziekten.	**Meerdere ziektes**** Nieuwe therapieën/ medicijnen	**In vitro onderzoek** Reeds beschikbaar	HSCI [67] Via: Google
	Nationale 'Ziekte van Alzheimer-iPS-celbank'	Gezien de belofte van iPSC, probeert UCI MIND (VS) een Nationale Alzheimer iPSC-bank op te bouwen; dit als onderdeel van het 'UCI Alzheimer's Disease Research Center (ADRC)'.	**Ziekte van Alzheimer** Nieuwe therapieën/ medicijnen	**In vitro onderzoek** Verzameling van iPSC al begonnen	UCI MIND website [69] Via: UCI MIND website [69]
	Europese bank voor iPSC	Een groot Europees publiek-privaat samenwerkingsproject gericht op het opzetten van de eerste Europese Bank voor geïnduceerde pluripotente stamcellen. EBiSC is ontwikkeld om aan de toenemende vraag naar op kwaliteit gecontroleerde en ziekte-relevante iPSC-lijnen die geschikt zijn voor onderzoek te voldoen. EBiSC wordt een gecentraliseerde, non-profit celbank om onderzoekers in de academische wereld en in de industrie toegang te geven tot schaalbare, kostenefficiënte en consistent hoogwaardige iPS-cellijnen om nieuwe geneesmiddelen te ontwikkelen.	**Meerdere ziektes** Nieuwe therapieën/ medicijnen	**In vitro onderzoek** Verzameling van iPSC-lijnen is begonnen in september 2014	EBISC (2014) [68] Via: Google

ADRC: Alzheimer's Disease Research Center; AUT: Oostenrijk; COPD: Chronische Obstructieve Longziekte; DE: Duitsland; DNA: Desoxyribonucleïnezuur; EBISC: European Bank for Induced pluripotent Stem Cells; EMBL: European Molecular Biology Laboratory; HIV: humaan immunodeficiëntievirus; HON: Hart Onderzoek Nederland; HSCI: Harvard Stem Cell Institute, VS; iPSC: geïnduceerde pluripotente stamcellen; IR: insulinereceptor; JP: Japan; MAB: Mesoangloblasten; NL: Nederland; RVO.nl: Rijkdienst voor Ondernemend Nederland; UCI MIND: The Institute for Memory Impairments and Neurological Disorders, VS.

* Neurologische aandoeningen; Bugada Syndroom (BrS); Coronaire hartziekten; Erfelijk Retinoblastoom; Erfelijke hartritmestoornissen (genetisch veroorzaakte stoornissen van het hartritme); Dravet syndroom, een ernstige vorm van epilepsie bij kinderen; ALS; Metabole stoornissen; Oogaandoeningen die tot blindheid leiden; Verslaving; Psychiatrische aandoeningen; Leverziekte; Ziekte van Alzheimer; Retinitis pigmentosa; Ziekte van Huntington; Ziekte van Parkinson; Vasculaire endotheliale aandoeningen; Campomelic Dysplasia (CD).
** Ziekte van Parkinson; Type I diabetes; Ziekte van Huntington; Syndroom van Down; Een vorm van gecombineerde immunodeficiëntie ("Disease Bubble Boy's"); Lesch-Nyhan syndroom, Ziekte van Gaucher; en twee vormen van spierdystrofie.

Overzichtstabel III - Voortplantingsgeneeskunde – kunstmatige voortplantingstechnieken

De ontwikkelingen die in onderstaande tabel staan beschreven hebben betrekking op klinische toepassingen die gerelateerd zijn aan het verbeteren of aanpassen van kunstmatige voortplantingstechnieken. In de tabel zijn geen studies opgenomen die onderdeel zijn van een bestaande IVF- or ICSI-behandeling.

Categorie ontwikkeling	Ontwikkeling	Beschrijving van de ontwikkeling	Potentiele klinische toepassingen	Fase van ontwikkeling	Type embryo gebruikt in onderzoek	Referentie Zoekstrategie (gevonden via)
Gameet-ontwikkeling	Analyse van calciumpatroon in humane eicellen en toepassing van diverse activatiestimuli	Fundamenteel onderzoek naar bevruchting/eicelactivatie. Bij correcte eicelactivatie worden verschillende calcium (Ca)-stijgingen in het cytoplasma geproduceerd volgens een bepaald patroon. Deze calciumstijgingen zijn van belang voor succesvolle bevruchting en verdere embryonale ontwikkeling. Deze eicelactivatie wordt ingang gezet door een stofje in de zaadcel. De eicel moet echter voldoende cytoplasmatisch rijp zijn om de Ca-stijgingen te genereren. De cruciale rol van de eicel in dit gehele eicelactivatie-mechanisme is nog onduidelijk. De bedoeling van dit project is om de rol van de eicel in het eicelactivatiemechanisme te bestuderen door enerzijds Ca-patroonanalyse uit te voeren en anderzijds na te gaan welke artificiële activatie-agentia het meest geschikt zijn om Ca-stijgingen te induceren.	–*	<u>Fundamenteel onderzoek</u> Studie van 09/07/2009 tot 09/07/2013	Speciaal gekweekte humane embryo's	Aanvraag studie bij Belgische federale commissie voor medisch en wetenschappelijk onderzoek op embryo's in vitro (FCE)– toegewezen Via: FCE website [100]
Pre-implantatie ontwikkeling	Genexpressie in humane pre-implantatie embryo's en embryonale stamcellen	Om vroege embryonale ontwikkeling te bestuderen wordt in deze studie nagegaan welke cellen in het vroege embryo over de capaciteit beschikken om zich opnieuw te ontwikkelen tot een volledig embryo in het laboratorium. Hiertoe wordt de aanwezigheid of afwezigheid van bepaalde eiwitten in delende embryonale cellen bepaald. Informatie over het tijdstip waarop en het mechanisme waardoor de cellen van het pre-implantatie embryo gaan differentiëren is belangrijk voor kennis over humane embryologie, vooral over (1) hoe de eerste differentiatie (naar placentaweefsel) en de tweede differentiatie (naar dooierzak) bij de mens verlopen en (2) wat er gebeurt na celverlies tijdens in vitro ontwikkeling van embryo's door fragmentatie, biopsie voor pre-implantatie genetische diagnostiek (PGD) en vriesschade.	–*	<u>Fundamenteel onderzoek</u> Studie van 30/06/2008 tot 30/06/2012	Humane restembryo's en speciaal gekweekte humane embryo's	Aanvraag studie bij FCE – toegewezen Via: FCE website [100]

Categorie ontwikkeling	**Ontwikkeling**	**Beschrijving van de ontwikkeling**	**Potentiele klinische toepassingen**	**Fase van ontwikkeling**	**Type embryo gebruikt in onderzoek**	**Referentie** **Zoekstrategie** (gevonden via)
	Studie naar PTEN-genexpressie tijdens de ontwikkeling van het embryo in de pre-implantatiefase	PTEN fungeert als een tumorsuppressie-gen door de productie van een fosfatase eiwitproduct; dit eiwitproduct is betrokken bij de regulatie van de celcyclus, het voorkomt dat cellen te snel groeien en delen. Het doel van het project is om de rol van het PTEN-gen tijdens de ontwikkeling van het embryo in de pre-implantatiefase te analyseren. Onderzoekers proberen meer inzicht te krijgen in de embryonale ontwikkeling voorafgaand aan implantatie, oorzaken die invloed hebben op de embryogroei en om de correlatie aan te tonen tussen specifieke genexpressie en de morfologie van het embryo vanaf eicel tot aan het blastocystestadium.	–*	<u>Fundamenteel onderzoek</u> Studie van 21/08/2009 tot 21/08/2013	Humane restembryo’s	aanvraag studie FCE – toegewezen Via: FCE website [100]
Embryo-kweekmedia	Optimalisatie van de kweekomgeving tijdens de embryonale ontwikkeling	Eicellen ingesloten in kleine ovariële follikels na hormonale stimulatie hebben het rijpingsproces nog niet volledig voltooid. Onderzoek heeft aangetoond dat eicellen afkomstig uit kleine ovariële follikels gemakkelijk te verzamelen zijn tijdens de eicelpunctie. In deze studie is geprobeerd de embryonale ontwikkeling van IVM-eicellen (onrijpe eicellen die nog in het lab moeten rijpen) te optimaliseren via aanpassingen van het kweekmedium, zoals bijvoorbeeld het toevoegen van verschillende antioxidanten.	–*	<u>Fundamenteel onderzoek</u> Studie van 02/02/2010 tot 02/02/2014	Speciaal gekweekte humane embryo’s	aanvraag studie FCE – toegewezen Via: FCE website [100]
	‘Lab on a chip’ (microfluid) technologieën	In deze RCT zijn gedoneerde bevroren- en ontdooide 4-dagen embryo’s gekweekt in standaard microdropschaaltjes of in microfluid-platforms. <u>Resultaat</u>: Microfluidic-technologie kan succesvol bijdragen aan de in vitro ontwikkeling van de humane blastocyst. <u>De microfluid-technologie zou in de toekomst een belangrijke bijdrage kunnen leveren aan ART</u> omdat deze techniek een meer optimale en natuurlijker omgeving biedt voor in vitro ontwikkeling van embryo’s dan de standaard microdropcultuur.	Microfluid-technologie kan bijdragen om ART te verbeteren	Studie van 01/08/2012 tot 01/08/2013	Humane restembryo’s	Kieslinger D.C. et al. (2014) [105];Dutch Trial Register (NTR), registry number NTR3867 Via: Conference abstract –

Categorie ontwikkeling	Ontwikkeling	Beschrijving van de ontwikkeling	Potentiele klinische toepassingen	Fase van ontwikkeling	Type embryo gebruikt in onderzoek	Referentie **Zoekstrategie** (gevonden via)
		Daarnaast zouden ingebouwde sensoren kunnen bijdragen aan een betere embryoselectie. Hiervoor is echter meer onderzoek nodig.				ESHRE 2014 [154]
	Ontwikkeling van een kantelend kweeksysteem (tilting embryo culture system (TECS))	Om het embryo de juiste stimuli te geven is een TECS ontwikkeld waarbij het embryo heen en weer wordt bewogen. In deze studie is onderzocht of het kantelende systeem de kwaliteit van verse humane embryo's kan verbeteren ten opzicht van een statisch kweeksysteem.	Verbeterde embryokwaliteit met een hoge implantatie-competentie	Studie gepresenteerd in 2013 TECS is in 2013 ontwikkeld	Humane restembryo's	SCAAC meeting paper (2014)[7] [106] Via: HFEA website [13]
Embryo-opslag	Vitrificatie **–** Optimalisatie invriezen/ ontdooien van blastocysten/ embryo's	Het doel van deze studie is om te onderzoeken of blastocysten afkomstig van verse restembryo's efficiënt ingevroren kunnen worden door middel van vitrificatie. Ook wordt nagegaan of blastocysten afkomstig van ingevroren en weer ontdooide restembryo's een tweede invriesproces kunnen ondergaan.	–*	<u>Fundamenteel onderzoek</u> Studie van 11/05/2010 tot 11/05/2014 <u>Reeds in gebruik</u> In de laatste jaren is in een aantal centra in het buitenland 'vitrificatie' geïntroduceerd als nieuwe methode voor cryopreservatie van embryo's (bijv. in England [155])	Humane restembryo's	aanvraag studie FCE – toegewezen Via: FCE website [100]
		<u>Gesloten vitrificatiesysteem:</u> Studie om te bepalen welk effect een gesloten vitrificatiesysteem heeft op het klievingsstadium van embryo's, de daaropvolgende blastocyst-ontwikkeling en op de kwaliteit beoordeeld op basis van proliferatie, celdood en NANOG-expressie (transcriptiefactor in hESC). En hoe dit is in vergelijking met 'controlled-rate' bevriezing.	–*	<u>Fundamenteel onderzoek</u> Studie gepresenteerd in 2013 <u>Reeds in gebruik</u> Gesloten vitrificatiesystemen zijn bij bedrijven te koop (bijv. het	Humane restembryo's	Hyslop L. et al. (2013) [113] Via Conference abstract – ESHRE 2013 [157]

[7] De Scientific en Clinical Advances Advisory Committee (SCAAC) is een subcommissie van de HFEA; 4/5 keer per jaar overweegt deze subcommissie de vooruitgang in de wetenschap en de klinische praktijk, die relevant is voor het werk van de HFEA.

Categorie ontwikkeling	Ontwikkeling	Beschrijving van de ontwikkeling	Potentiele klinische toepassingen	Fase van ontwikkeling	Type embryo gebruikt in onderzoek	Referentie Zoekstrategie (gevonden via)
		<u>Resultaat</u>: deze studie laat zien dat gesloten vitrificatiesystemen, waardoor het risico op besmetting tijdens het proces wordt verminderd, een hogere overlevingskans van embryo's biedt dan controlled-rate bevriezing.		Rapid-i™ uit Zweden) [156]		
Embryo-beoordeling /selectie	Time lapse embryo imaging (Time-lapsing)	Time-lapsing is een non-invasieve techniek waarbij tijdens de incubatie duizenden foto's gemaakt worden van het in vitro embryo. In deze studie wordt onderzocht of er bij gefragmenteerde klievingsstadiumembryo's verschil is in de tijdsduur van de compactie tussen uiteindelijk euploïde of aneuploïde blastocysten. (Compactie is het proces van het klievingsstadium van een embryo naar het blastocyststadium en vindt plaats rond de 3e dag). Time-lapsing in het IVF-lab heeft onderzoek naar de invloed van fragmentatie op de embryonale ontwikkeling tot het blastocyst-stadium vergemakkelijkt (hoe hoger de mate van fragmentatie, hoe lager de kans op zwangerschap). <u>Resultaat</u>: Significant meer euploïde blastocysten deden er minder dan 22 uur over het compactiestadium en het begin van de blastulatie te bereiken, dan aneuploïde blastocysten.	Klinische tool om euploïde van aneuploïde blastocysten te onderscheiden	Studie gepresenteerd in 2013 <u>Reeds in gebruik</u> Time lapse embryo imaging wordt in verschillende klinieken toegepast (bijv. in England [155])	Humane embryo bron niet bekend	Montgomery S. et al. (2013) [114] Via: Conference abstract – ESHRE 2013 [157]
		Time-lapsing gecombineerd met de meting van het zuurstofverbruik bij embryo's kan nieuwe dynamische markers opleveren voor embryonale kwaliteit. <u>Resultaat</u>: zuurstofverbruik en implantatie-rate worden beïnvloed door de chronologie van de klievingsstadia.	Beide bevindingen kunnen worden gecombineerd als aanvullende parameters voor embryoselectie	Studie gepresenteerd in 2013 <u>Reeds in gebruik</u> (zie boven)	Humane restembryo's	Tejera A. et al. (2013) [115] Via: Conference abstract – ESHRE 2013 [157]
	Embryo-levensvatbaarheid	In deze studie is het effect van een ammoniumgradiënt op de ontwikkeling, het metabolisme en het transcriptoom van humane en dierlijke (muis)embryo's onderzocht. Ammonium ontstaat in het kweekmedium doordat aminozuren worden verbruikt bij de groei van het embryo en door spontane deaminatie van aminozuren bij 37°C.	–*	<u>Fundamenteel onderzoek</u> Studie gepresenteerd in 2013	Speciaal gekweekte humane embryo's	SCAAC meeting paper (2014) [106] Via: HFEA website [13]

Categorie ontwikkeling	Ontwikkeling	Beschrijving van de ontwikkeling	Potentiele klinische toepassingen	Fase van ontwikkeling	Type embryo gebruikt in onderzoek	Referentie Zoekstrategie (gevonden via)
		Het doel van het onderzoek was om te onderzoeken of de relatieve lengte van de telomeren in de cumuluscellen (cellen die zich rondom de eicel bevinden) geassocieerd is met de embryokwaliteit en de leeftijd van de patiënt (vrouw). De relatieve telomeerlengte in cumuluscellen ten tijde van de eicelverzameling zou een nieuwe biomarker kunnen zijn voor het selecteren van zeer competente eicellen en embryo's van hoge kwaliteit.	Verbetering in embryoselectie	Studie gepresenteerd in 2013	Humane restembryo's	SCAAC meeting paper (2014) [106] Via: HFEA website [13]
	Non-invasieve methode om embryo-kwaliteit vast te stellen	Het doel van deze studie was om de aanwezigheid van extracellulaire vesicles (EV) aan te tonen in het kweekmedium. Ook is de relatie tussen EL-grootte en -concentratie en embryo-ontwikkeling en morfologische kwaliteit onderzocht. <u>Resultaat</u>: er is aangetoond dat embryo's bij de ontwikkeling EV uitscheiden. Er zijn aanwijzingen dat EV-grootte gebruikt kan worden om de kwaliteit van embryo's te voorspellen.	Effect op IVF-protocollen en het bepalen van het implantatiepotentieel van een embryo	Studie gepresenteerd in 2013	Humane restembryo's	Ferreira Y.J. et al. (2013) [117] Via: Conference abstract – ESHRE 2013 [157]

ART: geassisteerde reproductietechnologieën; Ca: Calcium; DNA: Deoxyribonucleic acid; EL: extracellulaire lichamen; ESHRE: European Society of Human Reproduction and Embryology; FCE: Federale Commissie voor medisch en wetenschappelijk onderzoek op Embryo's *in vitro*, Belgie; HFEA: Human Fertilisation & Embryology Authority, VK; IVF: in vitro fertilisatie; IVM: in vitro maturatie; RCT: gerandomiseerde klinische trial; SCAAC: The Scientific and Clinical Advances Advisory Committee; TECS: tilting embryo culture system.

* Deze ontwikkelingen (studies) hebben geen directe klinische toepassingen maar zijn meer fundamentele onderzoeken. Deze dienen uiteindelijk ook ter verbetering van ART.

Overzichtstabel IV - Voortplantingsgeneeskunde - voorkomen van erfelijke/aangeboren aandoeningen

Categorie ontwikkeling	Ontwikkeling	Beschrijving van de ontwikkeling	Erfelijke/ aangeboren aandoening waarvoor therapie of diagnostiek beschikbaar zou komen	Fase van ontwikkeling	Type embryo gebruikt in onderzoek	Referentie Zoekstrategie (gevonden via)
Mitochondriale donatie	Maternal spindle transfer (MST) en pro-nuclear transfer (PNT)	Bij MST en PNT wordt DNA uit de nucleus van een eicel van een patiënt met ongezonde mitochondria overgebracht in een eicel van een donor met gezonde mitochondria, waaruit het nucleaire DNA van de donor is verwijderd. Er zijn na toepassing van deze technieken muizen en apen geboren (de dieren zijn nu volwassen en gezond); humane embryo's zijn op deze manier gekweekt.	**Genetisch geërfde mitochondriale ziekten van de moeder** Behandelingsoptie voor het voorkomen van mitochondriale ziekte	Het HFEA-expertpanel kondigde in juni 2014 aan dat deze procedure 'niet onveilig' was en 'potentieel nuttig'. In juli 2014 bevestigde het ministerie van Volksgezondheid van het Verenigd Koninkrijk dat de plannen om het gebruik van deze technieken te legaliseren verdergaan.	Dierembryo's en speciaal gekweekte humane embryo's	HFEA (2014) [126] Via: HFEA website [13]
Mitochondriale vervanging	Polar body transfer	Omdat een polar lichaam weinig mitochondria bevat, maar wel hetzelfde genetische materiaal heeft als een eicel, kunnen polar lichamen worden gebruikt om overdracht van ongezond mtDNA te voorkomen (in muizen). De gecreëerde embryo's lijken gezond en zich goed te ontwikkelen. Toen de onderzoekers de polar lichaam-procedure in humane zygotes testten, zagen zij geen afwijkingen in het aantal chromosomen of andere grove DNA-afwijkingen.	**Genetisch geërfde mitochondriale ziekten van de moeder** Behandelingsoptie voor het voorkomen van mitochondriale ziekte	Het HFEA-expertpanel kwam tot de opvatting dat de ontwikkelingen in de komende jaren waarschijnlijk snel zullen gaan.	Dierembryo's en speciaal gekweekte humane embryo's	Wang T. et al. (2014) [128];Greenfield A. et al. (2014) [129] Via: HFEA website [13]
Genetische tests	<u>Fundamenteel onderzoek</u> naar chromosomale afwijkingen	Het project bestudeert oorzaken, mechanismen en gevolgen voor IVF van chromosomale afwijkingen in humane pre-implantatie embryo's en embryonale stamcellen om de huidige kweekcondities, die wellicht een negatieve rol spelen in het ontstaan van de chromosoomafwijkingen te verbeteren.	**Chromosomale afwijkingen** Detectie van chromosomale afwijkingen	<u>Fundamenteel onderzoek</u> - Studie van 18/12/2009 tot 18/12/2013	Humane restembryo's	Aanvraag studie bij Belgische federale commissie voor medisch en wetenschappelijk onderzoek op embryo's in vitro (FCE)– toegewezen

Categorie ontwikkeling	Ontwikkeling	Beschrijving van de ontwikkeling	Erfelijke/ aangeboren aandoening waarvoor therapie of diagnostiek beschikbaar zou komen	Fase van ontwikkeling	Type embryo gebruikt in onderzoek	Referentie Zoekstrategie (gevonden via)
		Een tweede onderzoeksvraag richt zich op het verklaren van chromosomale afwijkingen in embryo's en de mechanismen van zelfcorrectie, om zo een nieuwe, betrouwbare screeningstool voor embryo's te kunnen ontwikkelen die PGS zou kunnen vervangen.				Via: FCE website [100]
	PGS – Comprehensive chromosome screening (CCS) - Comparative genomic hybridisation (CGH) screening	Bij CGH wordt een monster uit een eicel of een enkele cel uit een blastocyst vergeleken met een normaal controlemonster; de volledige set van 23 chromosomenparen kan zo vergeleken worden. Deze studie in België kijkt naar de ontwikkeling van een kort en efficiënt protocol voor de analyse van cellen via array-CGH. Dit protocol zal worden toegepast op humane pre-implantatie embryo's.	**Chromosomale afwijkingen** Detectie van afwijkingen in het aantal chromosomen in een eicel/embryo	Studie van 05/05/2009 tot 05/05/2013 CGH is een nieuwe screeningstechniek en wordt momenteel aangeboden door slechts een paar klinieken in het VK[13]	Humane restembryo's	Aanvraag studie bij FCE – toegewezen Via: FCE website [100]
		Deze studie probeert te beantwoorden of CCS van cellen afkomstig van het trofectoderm van de blastocyst op een juiste wijze het chromosoom-complement de binnenste celmassa van de blastocyst, kan voorspellen. CCS van het trofectoderm is een techniek die geen negatieve impact op de verdere ontwikkeling van het embryo lijkt te hebben.	**Chromosomale afwijkingen** CCS lijkt een hoge diagnostische nauwkeurigheid te hebben.	Studie van 01/01/2011 tot 31/08/2011 CCS is bijv. toegepast in klinieken in de VS [158, 159] en VK [160]	Humane restembryo's	SCAAC meeting paper (2014) [106] Via: HFEA website [13]
	PGS – Comprehensive chromosome screening (CCS) – qPCR en Bobs-technologie	Embryo's zijn in deze studie geanalyseerd met real-time qPCR en BoBs-technologie. Beide technieken zijn gebaseerd op de analyse van aparte 'genomic regions' verspreid over alle 24 chromosomen (alle 22 niet-geslacht chromosomen en de X en Y chromosomen).	**Chromosomale afwijkingen** CCS heeft potentieel voor een hoge diagnostische nauwkeurigheid	Studie gepresenteerd in 2013 CCS is bijv. toegepast in klinieken in de VS [158, 159] en VK [160]	Humane restembryo's	Spath K. et al. (2013) [120] Via: Conference abstract – ESHRE 2013 [157]

Categorie ontwikkeling	Ontwikkeling	Beschrijving van de ontwikkeling	Erfelijke/ aangeboren aandoening waarvoor therapie of diagnostiek beschikbaar zou komen	Fase van ontwikkeling	Type embryo gebruikt in onderzoek	Referentie Zoekstrategie (gevonden via)
	PGD – Next generation sequencing (NGS)	Nieuwe-generatie sequencing-technologieën (NGS) zijn vormen van DNA sequencing. Ze zijn in staat grotere stukken DNA tegelijkertijd te sequencen en dus geschikter voor het ontrafelen van hele genomen. Deze studie onderzoekt het gebruik van NGS bij PGD; om te evalueren of 'semiconductor-based' NGS gebruikt kan worden voor genetische analyse van humane embryo's.	**Monogene ziekte** (erfelijke ziekte door afwijking in één enkel gen) NGS heeft potentieel voor een efficiënte diagnostische nauwkeurigheid	Studie gepresenteerd in 2013 NGS-technologieën zijn te koop bij verschillende bedrijven[161, 162] Kliniek in Polen gebruikt PGD gebaseerd op NGS[121]	Humane restembryo's	SCAAC meeting paper (2014) [106] Via: HFEA website [13]
	Moleculaire parameters – gen expressie van cumulus cellen	In deze studie zijn nieuwe moleculaire parameters voor embryo- of eicelselectie bestudeerd; hierbij gaat het om de Genome-wide genexpressie in cumulus cellen. Vroege deling tijdens het klievingsstadium is gekozen als parameter voor de levensvatbaarheid van het embryo. In totaal zijn 611 genen differentieel uitgedrukt (bijv. betrokken bij celcyclus, fibroblast-groeifactor); de meeste differentieel uitgedrukte genen wijzen op een lage zuurstofconditie en vertraagde eicelrijping.	**Erfelijke aandoeningen** Verbeteren van embryoselectie en dus IVF-resultaat	Studies gepresenteerd in 2008	Humane embryo's; niet bekend is of het om restembryo's of speciaal gekweekte embryo's gaat.	SCAAC meeting paper (2014) [106] Via: HFEA website [13]

BoBs: Bacterial artificial chromosomes (BACs)-on-beads; CCS: Comprehensive chromosome screening; CGH: Comparative genomic hybridisation; DNA: Desoxyribonucleïnezuur; ESHRE: European Society of Human Reproduction and Embryology; FCE: Federale Commissie voor medisch en wetenschappelijk onderzoek op Embryo's *in vitro*, Belgie; HFEA: Human Fertlisation & Embryology Authority, VK; IVF: in vitro fertilisatie; MST: maternal spindle transfer; mtDNA: mitochondriaal DNA; NGS: next-generation sequencing; PGD: pre-implantatie genetische diagnose; PGS: pre-implantatie genetische screening; PNT: pro-nuclear transfer; qPCR: kwantitatieve polymerasekettingreactie; SCAAC: The Scientific and Clinical Advances Advisory Committee, VK; VK: Verenigd Koninkrijk; VS: Verenigde Staten

Referenties

1. Tweede Kamer der Staten-Generaal, *Wet houdende regels inzake handelingen met geslachtscellen en embryo's (Embryowet)*. Vergaderjaar 2000-2001.
2. Ministerie van Volksgezondheid Welzijn en Sport (VWS), *Standpunt op evaluatie Embryowet en Wet donorgegevens kunstmatige bevruchting.* Juli 2013.
3. ZonMw, *Evaluatie Embryowet en Wet donorgegevens kunstmatige bevruchting* September 2012.
4. Gladstone Institutes. Beschikbaar via: http://labs.gladstone.ucsf.edu/yamanaka/home.
5. Moore ML, ed. *Perinatologie. Leerboek neonatologie en verloskunde voor verpleegkundigen.* . 2003, Bohn Strafleu van Loghum
6. Vereniging voor mensen met vruchtbaarheidsproblemen. 2014; Beschikbaar via: http://www.freya.nl/index.php.
7. Mummery C, et al., eds. *Stem Cells. Scientific Facts and Fiction*. Second Edition ed. 2014, Elsevier Eastborne, UK.
8. Thomson JA, et al., *Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts.* Science 1998. **282**(5391): p. 1145-1147
9. Takahashi K and Yamanaka S, *Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors.* Cell 2006(126): p. 663-676.
10. Puri MC and Nagy A, *Concise Review: Embryonic Stem Cells Versus Induced Pluripotent Stem Cells: The Game Is On.* Stem Cells 2011. **30**(1): p. 10-14.
11. ZonMw. *Dierproeven Begrensd III*. 2014; Beschikbaar via: http://www.zonmw.nl/nl/programmas/programma-detail/dierproeven-begrensd-iii/algemeen/.
12. International Society for Stem Cell Research (ISSCR). 2014; Beschikbaar via: http://www.isscr.org.
13. Human Fertlisation & Embryology Authority (HFEA). 2014; Beschikbaar via: http://www.hfea.gov.uk/index.html
14. CHA Bio & Diostech. *A Phase I/IIa, Open-Label, Single-Center, Prospective Study to Determine the Safety and Tolerability of Sub-retinal Transplantation of Human Embryonic Stem Cell Derived Retinal Pigmented Epithelial(MA09-hRPE) Cells in Patients With Advanced Dry Age-related Macular Degeneration(AMD)*. 2012; Beschikbaar via: http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01674829?term=embryonic+stem+cell&rank=5.
15. Schwartz SD, et al., *Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report* Lancet 2012. **379**: p. 713-20.
16. Advanced Cell Technology Inc (ACT). *Safety and Tolerability of Sub-retinal Transplantation of hESC Derived RPE (MA09-hRPE) Cells in Patients With Advanced Dry Age Related Macular Degeneration (Dry AMD)*. 2014; Beschikbaar via: http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01344993?term=embryonic+stem+cell&rank=9.
17. Pfizer. *A Study Of Implantation Of Human Embryonic Stem Cell Derived Retinal Pigment Epithelium In Subjects With Acute Wet Age Related Macular Degeneration And Recent Rapid Vision Decline*. 2014; Beschikbaar via: http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01691261?term=embryonic+stem+cell&rank=6.
18. Advanced Cell Technology Inc (ACT). *Research With Retinal Cells Derived From Stem Cells for Myopic Macular Degeneration*. 2014; Beschikbaar via: http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02122159?term=embryonic+stem+cell&rank=10.
19. CHA Bio & Diostech. *Safety and Tolerability of MA09-hRPE Cells in Patients With Stargardt's Macular Dystrophy(SMD)*. 2012; Beschikbaar via: http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01625559?term=embryonic+stem+cell&rank=11.
20. Schwartz SD, et al., *Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies.* Lancet 2014.
21. Diabetes Fonds. *Diabetes type 1*. Beschikbaar via: http://www.diabetesfonds.nl/artikel/diabetes-type-1.
22. Pagliuca FW, *Generation of Functional Human Pancreatic B Cells In Vitro* Cell 2014. **159**: p. 428-439.
23. D'Amour KA, et al., *Production of pancreatic hormone–expressing endocrine cells from human embryonic stem cells.* Nature Biotechnology, 2006. **24**: p. 1329-1401.
24. Rezania A, et al., *Reversal of diabetes with insulin-producing cells derived in vitro from human pluripotent stem cells.* Nature Biotechnology, 2014. **32**: p. 1121-1133.
25. Hersenstichting Nederland. *Parkinson*. 2014; Beschikbaar via: https://www.hersenstichting.nl/alles-over-hersenen/hersenaandoeningen/parkinson.
26. Kriks S, et al., *Dopamine neurons derived from human ES cells efficiently engraft in animal models of Parkinson's disease* Nature 2011. **480**: p. 547-551.

27. Grealish S, et al., *Human ESC-Derived Dopamine Neurons Show Similar Preclinical Efficacy and Potency to Fetal Neurons when Grafted in a Rat Model of Parkinson's Disease.* Cell Stem Cell 2014. **15**: p. 653-665.
28. Stem Cells Portal. *New Clinical Trial Testing Stem Cell Treatment for Spinal Cord Injuries Is Follow-on to Geron Trial*. September 2014; Beschikbaar via: http://stemcellsportal.com/new-clinical-trial-testing-stem-cell-treatment-spinal-cord-injuries-follow-geron-trial.
29. Asterias Biotherapeutics, I. *Dose Escalation Study of AST-OPC1 in Spinal Cord Injury*. 2014; Beschikbaar via: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02302157?term=Asterias+Biotherapeutics&rank=2.
30. Geron Company. 2014; Beschikbaar via: http://www.geron.com/.
31. Nederlandse Vereniging voor Slechthorenden (NVVS). *Hoe werkt het oor?* ; Beschikbaar via: http://www.nvvs.nl/nl-NL/Slechthorendheid/Wat-is-slechthorendheid/Hoe-werkt-het-oor.
32. Chen W, et al., *Restoration of auditory evoked responses by human ES-cell-derived otic progenitors.* Nature 2012. **490**(7419): p. 278-82.
33. Passier R, van Laake LW, and Mummery CL, *Stem-cell-based therapy and lessons from the heart.* Nature 2008. **453**.
34. EuroStemCell. 2014; Beschikbaar via: http://www.eurostemcell.org/.
35. Assistance Publique - Hôpitaux de Paris. *Transplantation of Human Embryonic Stem Cell-derived Progenitors in Severe Heart Failure (ESCORT)*. 2014; Beschikbaar via: http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02057900?term=embryonic+stem+cell&rank=1.
36. Szkolnicka D, et al., *Deriving functional hepatocytes from pluripotent stem cells.* Curr Protoc Stem Cell Biol, 2014. **30**.
37. Nishimoto KP, et al., *Modification of human embryonic stem cell-derived dendritic cells with mRNA for efficient antigen presentation and enhanced potency.* Regenerative Medicine, 2011. **6**(3): p. 303-318.
38. Tseng SY, et al., *Generation of immunogenic dendritic cells from human embryonic stem cells without serum and feeder cells.* Regenerative Medicine, 2009. **4**(4): p. 513-526.
39. Shay JW and Wright WE, *Role of telomeres and telomerase in cancer.* Semin Cancer Biol., 2011. **21**(6): p. 349-53.
40. Center Watch News online. *Cancer Research U.K., Cancer Research Technology, Asterias Biotherapeutics partner* September 2014; Beschikbaar via: http://www.centerwatch.com/news-online/article/6879/#sthash.epq9OP6X.CFevF9mR.dpbs.
41. Human Fertilisation and Embryology Authority (HFEA). *HFEA Licence Committee approves two applications for research on human embryos to produce stem cell lines*. 2002; Beschikbaar via: http://www.hfea.gov.uk/951.html.
42. Schulpen SH, et al., *Distinct gene expression responses of two anticonvulsant drugs in a novel human embryonic stem cell based neural differentiation assay protocol.* Toxicol In Vitro, 2014. **29**(3): p. 449-457.
43. Yamada M, et al., *Human oocytes reprogram adult somatic nuclei of a type 1 diabetic to diploid pluripotent stem cells* Nature 2014. **510**: p. 533.
44. Chung YG, et al., *Human somatic cell nuclear transfer using adult cells.* Cell Stem Cell, 2014(14): p. 777-780.
45. Cibelli JB, *Human Somatic Cell Nuclear Transfer Is Alive and Well* Cell Stem Cell, June 2014(14): p. 699.
46. Matsunaria H, et al., *Blastocyst complementation generates exogenic pancreas in vivo in apancreatic cloned pigs.* PNAS, March 2013. **110**(12): p. 4557-4562.
47. Nobelprize.org Nobel Media AB. *The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2012*. 2014; Beschikbaar via: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2012/.
48. University of California San Francisco (UCSF). *Focus on Induced Pluripotent Stem Cells and Shinya Yamanaka*. oktober 2012; Beschikbaar via: http://www.ucsf.edu/news/2012/10/12912/stem-cell-science-q.
49. Takashima Y, et al., *Resetting Transcription Factor Control Circuitry toward Ground-State Pluripotency in Human.* Cell 2014. **158**: p. 1254–1269.
50. Park TS, et al., *Derivation of primordial germ cells from human embryonic and induced pluripotent stem cells is significantly improved by coculture with human fetal gonadal cells.* Stem Cells, 2009. **27**(4): p. 783-95.
51. Jung SM, et al., *Generation of cardiomyocyte from synoviocytes of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis via induced pluripotent stem cell*, in *ISSCR 12th Annual Meeting Report*. 2014.
52. Iovino S, et al., *Genetic Insulin Resistance is a Potent Regulator of Gene Expression and Proliferation in Human iPS Cells. Running Title: Insulin Resistance Alters iPS Cell Function* Diabetes 2014.
53. Kanke K, et al., *Stepwise differentiation of pluripotent stem cells into osteoblasts using four small molecules under serum-free and feeder-free conditions*, in *ISSCR 12th Annual Meeting Report*. 2014.

54. Hadassah Medical Organization. *Development of iPS From Donated Somatic Cells of Patients With Neurological Diseases*. 2014; Beschikbaar via: http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00874783?term=embryonic+stem+cell&rank=21.
55. Hadassah Medical Organization. *Derivation of Induced Pluripotent Stem Cells From an Existing Collection of Human Somatic Cells*. 2014; Beschikbaar via: http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00801333?term=induced+pluripotent+stem+cells&rank=2.
56. Nantes University Hospital. *Molecular Mechanism Identification in Inherited Arrhythmias and Valvulopathies From Induced Pluripotent Stem Cells (Diag-iPS)*. 2014; Beschikbaar via: http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01734356?term=induced+pluripotent+stem+cells&rank=5.
57. Scripps Translational Science Institute. *Evaluating Cardiovascular Phenotypes Using Induced Pluripotent Stem Cells (iPSC)*. 2014; Beschikbaar via: http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01517425?term=induced+pluripotent+stem+cells&rank=6.
58. University of Wisconsin. *Feasibility of Generating Pluripotent Stem Cells From Patients With Familial Retinoblastoma*. 2014; Beschikbaar via: http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02193724?term=induced+pluripotent+stem+cells&rank=8.
59. University of Dundee. *Investigating Hereditary Cardiac Disease by Reprogramming Skin Cells to Heart Muscle (CLUE)*. 2013; Beschikbaar via: http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01865981?term=induced+pluripotent+stem+cells&rank=13.
60. Royan Institute. *Patient Specific Induced Pluripotency Stem Cells (PSiPS)*. 2010; Beschikbaar via: http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00953693?term=embryonic+stem+cell&rank=14.
61. National Institute on Drug Abuse (NIDA). *Stem Cell Study of Genetics and Drug Addiction*. 2014; Beschikbaar via: http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01534624?term=induced+pluripotent+stem+cells&rank.
62. Center Watch Clinical Trials. *Researchers use stem cells to determine new therapies for severe childhood epilepsy* December 2011; Beschikbaar via: http://www.centerwatch.com/news-online/article/2630/#sthash.1pcnhC3q.hjsnJCJc.dpbs.
63. Hubrecht Institute. *Stamcelonderzoek*. Beschikbaar via: http://www.hubrecht.eu/friends/Stamcelonderzoek.html.
64. Yoshida T, et al., *The use of induced pluripotent stem cells to reveal pathogenic gene mutations and explore treatments for retinitis pigmentosa.* Brain 2014. **7**: p. 45.
65. Carroll J. ***Boeiende ontwikkelingen met 'Geïnduceerde' stamcellen***. Juli 2012 Beschikbaar via: http://nl.hdbuzz.net/088.
66. Zhang M, et al., *Recessive cardiac phenotypes in induced pluripotent stem cell models of Jervell and Lange-Nielsen syndrome: Disease mechanisms and pharmacological rescue.* Proc Natl Acad Sci U S A., 2014. **111**(50): p. E5383-92.
67. Havard Stem Cell Institute. *Using iPs cells to create disease models*. 2008; Beschikbaar via: http://hsci.harvard.edu/using-ips-cells-create-disease-models.
68. European Bank for Induced pluripotent Stem Cells (EBISC), *The first European Bank for induced pluripotent Stem Cells.* 2014.
69. The Institute for Memory Impairments and Neurological Disorders (UCI MIND). 2014; Beschikbaar via: http://www.mind.uci.edu/research/cutting-edge-alzheimers-research/stem-cells/.
70. Stem Cells Translational Medicine. *World's first induced pluripotent stem cells clinical study on humans launches in Japan*. 2014; Beschikbaar via: http://stemcellstm.alphamedpress.org/site/misc/News159.xhtml.
71. Rijkdienst voor Ondernemend Nederland. *Klinische studie met iPS-cellen voor de ziekte van Parkinson*. April 2014; Beschikbaar via: http://www.rvo.nl/actueel/nieuws/klinische-studie-met-ips-cellen-voor-de-ziekte-van-parkinson, http://www.rvo.nl/sites/default/files/2014/04/Ziekte%20van%20Parkinson.pdf.
72. Wainger BJ, et al., *Intrinsic Membrane Hyperexcitability of Amyotrophic Lateral Sclerosis Patient-Derived Motor Neurons.* April 2014. **7**(1): p. 1-11.
73. Adams WJ, et al., *Functional vascular endothelium derived from human induced pluripotent stem cells.* Stem Cell Rep., 2013. **1**: p. 105-113.
74. Orlova VV, et al., *Functionality of endothelial cells and pericytes from human pluripotent stem cells demonstrated in cultured vascular plexus and zebrafish xenografts.* Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. , 2014. **34**: p. 177-186.
75. Lian X, et al., *Efficient Differentiation of Human Pluripotent Stem Cells to Endothelial Progenitors via Small-Molecule Activiation of WNT Signaling.* Stem Cell Reports, 2014. **3**: p. 1-13.

76. Ohta, et al., *Efficient and less labor-intensive methods for inducing vascular endothelial cells from human pluripotent stem cells*, in *ISSCR 12th Annual Meeting Report* 2014.
77. Samuel R, et al., *Generation of functionally competent and durable engineered blood vessels from human induced pluripotent stem cells.* PNAS, 2013. **110**(31): p. 12774-12779.
78. Nederlandse Vereniging voor Hematologie (NVvH). 2014; Beschikbaar via: http://www.hematologienederland.nl/.
79. Ni Z, et al., *Anti cancer therapy using tumor targerted natural killer cells derived from human pluripotent STME cells*, in *ISSCR 12th Annual Meeting Report*. 2014.
80. Yusa K, et al., *Targeted gene correction of α1-antitrypsin deficiency in induced pluripotent stem cells.* Nature 2011. **487**: p. 391-394.
81. Wenzel D, et al., *Genetically corrected iPSCs as cell therapy for recessive dystrophic epidermolysis bullosa.* Science Translational Medicine, November 2014. **6**(264).
82. Sebastiano V, et al., *Human COL7A1-corrected induced pluripotent stem cells for the treatment of recessive dystrophic epidermolysis bullosa.* Science Translational Medicine, November 2014. **6**(264).
83. Umegaki-Arao N, et al., *Induced pluripotent stem cells from human revertant keratinocytes for the treament of epidermolysis bullosa* Science Translational Medicine, November 2014. **6**(264).
84. Erfo Centrum. *Epidermolysis bullosa*. 2014; Beschikbaar via: http://www.erfelijkheid.nl/content/epidermolysis-bullosa.
85. Ye L, et al., *Seamless modification of wild type induced pluripotent stem cells to the natural CCR532 mutation confers resistance to HIV infection.* PNAS, 2014. **111**(26): p. 9591-9596.
86. Martins-Taylor, K. and R.H. Xu, *Concise review: Genomic stability of human induced pluripotent stem cells.* Stem Cells, 2012. **30**(1): p. 22-7.
87. Barakat TS and Gribnau J, *X chromosome inactivation in the cycle of life.* Development 2012. **139**(12): p. 2085-9.
88. Briggs SF and Reijo Pera RA, *X chromosome inactivation: recent advances and a look forward.* Curr Opin Genet Dev., 2014. **28C**: p. 78-82.
89. Gutierrez-Aranda I, et al., *Human induced pluripotent stem cells develop teratoma more efficiently and faster than human embryonic stem cells regardless the site of injection.* Stem Cells 2010. **28**(9): p. 1568-70.
90. Jose M Polo, et al., *Cell type of origin influences the molecular and functional properties of mouse induced pluripotent stem cells.* Nat Biotechnol. , 2010. **28**(8): p. 848-855.
91. Pinborg A, et al., *Congenital anomalies after assisted reproductive technology.* Fertil Steril, 2013. **99**: p. 327–32.
92. Kerkis, *In vitro spermatogenesis from genetically unmodified male mouse embryonic stem cells.* ESHRE session 59 2008.
93. West F, *Enrichment and Differentiation of Human Germ-like Cells Mediated by Feeder Cells and Basic Fibroblast Growth Factor Signaling.* Stem cell express 2008.
94. Easley CA, Simerly CR, and Schatten G, *Gamete derivation from embryonic stem cells, induced pluripotent stem cells or somatic cell nuclear transfer-derived embryonic stem cells: state of the art.* Reproduction, Fertility and Development, 2014. **27**(1): p. 89-92.
95. Nederlands Netwerk Fertiliteitspreservatie, *Cryopreservatie en transplantatie van ovariumweefsel. Landelijk protocol* September 2012.
96. Rodriguez-Wallberg KA, et al., *Full-term newborn after repeated ovarian tissue transplants in a patient treated for Ewing sarcoma by sterilizing pelvic irradiation and chemotherapy.* Acta Obstet Gynecol Scand., 2014.
97. Lim, K.S., et al., *In vitro maturation: Clinical applications.* Clin Exp Reprod Med, 2013. **40**(4): p. 143-7.
98. Jeroen Bosch Ziekenhuis. *Eerste Nederlandse IVM baby geboren in Jeroen Bosch Ziekenhuis*. 2009; Beschikbaar via: http://www.jeroenboschziekenhuis.nl/Publicaties/102369/Eerste-Nederlandse-IVM-baby-geboren-in-Jeroen-Bosch-Ziekenhuis.
99. Woods DC and Tilly JL, *The next (re)generation of ovarian biology and fertility in women: is current science tomorrow's practice? .* Fertil Steril, 2012. **98**(1): p. 3-10.
100. De Federale Commissie voor Embryo's (FCE). 2014; Beschikbaar via: http://health.belgium.be/eportal/Healthcare/Consultativebodies/Commissions/Embryoinvitro/Annualreports/index.htm#.VFDFBvmG_Xt.
101. Combelles, C.M. and G. Chateau, *The use of immature oocytes in the fertility preservation of cancer patients: current promises and challenges.* Int J Dev Biol, 2012. **56**(10-12): p. 919-29.
102. Ministerie van Volksgezondheid Welzijn en Sport (VWS), *Houdende wijziging van het Planningsbesluit in-vitrofertilisatie in verband met het opheffen van het moratorium op PESA en TESE*. September 2014: Nederland
103. Horsthemke B, *Mechanisms of imprint dysregulation.* Am J Med Genet C Semin Med Genet., 2010. **154C**(3): p. 321-8.
104. Harper J, et al., *When and how should technology be introduced into the IVF laboratory?* Human Reproduction, 2012. **27**(2): p. 303-313.

105. Kieslinger DC, et al., *In vitro development of donated frozen-thawed human embryos in microfluidic chips: a randomized controlled trial.* Human Reproduction, 2014.
106. The Scientific and Clinical Advances Advisory Committee (SCAAC). *Paper - Horizon Scanning prioritisation - Annex A*. February 2014; Beschikbaar via: http://www.hfea.gov.uk/8733.html.
107. Dumoulin JC, et al., *Effect of in vitro culture of human embryos on birthweight of newborns.* Human Reproduction, 2010. **25**(3): p. 605-612.
108. Kleijkers SHM, et al., *IVF culture medium affects post-natal weight in humans during the first 2 years of life.* Human Reproduction, 2014. **29**(4): p. 661-669.
109. Chronopoulou E and Harper JC, *IVF culture media: past, present and future.* Human Reproduction Update, 2015. **21**(1): p. 39-55.
110. Mastenbroek S, et al., *Embryo selection in IVF.* Human Reproduction, 2011. **26**(5): p. 964-966.
111. Nederlandse Vereniging voor Obstetrie en Gynaecologie (NVOG), *Standpunt Vitrificatie van humane eicellen en embryo's. Nederlandse Vereniging voor Obstetrie en Gynaecologie*. April 2008: Utrecht, Nederland
112. Loutradi KE, et al., *Cryopservation of human embryos by vitrification or slow freezing: a systematic review and meta-analysis.* Fertil Steril, 2008. **90**: p. 186-193.
113. Hyslop L, et al., *Blastocyst formation, cell proliferation, and NANOG expression are not comprised by cleavage stage vitrification using a closed system.* Human Reproduction, 2013. **28 (suppl 1)**.
114. Montgomery S, et al., *Does the duration of compaction differ in fragmented cleavage stage embryos that become euploid or aneuploidy blastocysts.* Human Reproduction 2013. **28 (suppl 1)**.
115. Tejera A, et al., *Embryo oxygen consumption is directly related with exact timing of cell cleavages and implantation rates.* Human Reproduction, 2013. **28 (suppl 1)**.
116. Armstrong S, et al., *Time-lapse in the IVF-lab: how should we assess potential benefit?* Human Reproduction, 2015. **30**(1): p. 3-8.
117. Ferreira YJ, et al., *Human embryos release extracellular vesicles which may act as indicators of embryo quality.* Human Reproduction, 2013. **28 (suppl 1)**.
118. Wilton L, *Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in early human embryos: a review.* Prenat Diagn, 2002. **22**: p. 512-518.
119. Wells D, Alfarawati S, and Fragouli E, *Use of comprehensive chromosomal screening for embryo assessment: microarrays and CGH.* Mal Hum Reprod, 2008. **14**: p. 703-710.
120. Spath K, et al., *Development and validation of rapid and cost-effective blastocyst comprehensive chromosome analysis methods utilising quantitative real-time PCR and microbead-based technologies.* Human Reproduction, 2013. **28 (suppl 1)**.
121. INVICTA. Beschikbaar via: http://www.invicta.pl/en/1754/new_pgd-ngs.html.
122. Gezondheidsraad, *Next generation sequencing in diagnostiek.* 2015, Gezondheidsraad: Den Haag.
123. The Evian Annual Reproduction (EVAR) Workshop Group 2010, et al., *Contemporary genetic technologies and female reproduction.* Human Reproduction Update, 2011. **17**(6): p. 829–847.
124. Wang SXY, *The Past, Present, and Future of Embryo Selection in In Vitro Fertilization.* Yale J Biol Med., 2011. **84**(4): p. 487-490.
125. Amato, P., et al., *Three-parent in vitro fertilization: gene replacement for the prevention of inherited mitochondrial diseases.* Fertil Steril, 2014. **101**(1): p. 31-5.
126. Human Fertilisation and Embryology Authority (HFEA), *Mitochondrial donation: an introductory briefing note*. 2014
127. United Kingdom Parliament. *Commons debate statutory instrument on mitochondrial donation*. 3 februari 2015]; Beschikbaar via: http://www.parliament.uk/business/news/2015/february/commons-debate-statutory-instrument-on-mitochondrial-donation/.
128. Wang T, Sha H, and Ji D, *Polar body genome transfer for preventing the transmission of inherited mitochondrial diseases.* Cell, 2014. **157**(7): p. 1591-1604.
129. Greenfield A, et al., *Review of the safety and efficacy of polar body transfer to avoid mitochondrial disease Addendum to 'Third scientific review of the safety and efficacy of methods to avoid mitochondrial disease through assisted conception: 2014 update'*. October 2014.
130. University College London (UCL). *Europe's first human embryonic stem cell transplant in patient with Stargardt's Disease at Moorfields Eye Hospital*. January 2012 Beschikbaar via: http://www.ucl.ac.uk/stemcells/News/stem-cells-news/news111.
131. Research Councils UK, *Memorandum from research councils UK (rcuk) in response to the House of lords inquiry into regenerative medicine* 2012
132. Mastenbroek S and Repping S, *Preimplantation genetic screening: back to the future.* Human Reproduction, 2014. **29**(9): p. 1846-50.
133. Asterias biotherapeutics. *asterias biotherapeutics receives u.s. fda clearance to initiate phase 1/2a clinical trial of ast-opc1 in patients with cervical complete spinal cord injury*. August 2014; Beschikbaar via: http://asteriasbiotherapeutics.com/asterias-biotherapeutics-receives-u-s-fda-

clearance-to-initiate-phase-12a-clinical-trial-of-ast-opc1-in-patients-with-cervical-complete-spinal-cord-injury/.
134. ClinicalTrials.gov. 2014; Beschikbaar via: http://www.clinicaltrials.gov/ct2/home.
135. Advanced Cell Technology Inc (ACT). 2014; Beschikbaar via: http://www.advancedcell.com/.
136. University College London (UCL). *Europe's first human embryonic stem cell transplant in patient with Stargardt's Disease at Moorfields Eye Hospital.* 2012 Beschikbaar via: http://www.ucl.ac.uk/stemcells/News/stem-cells-news/news111.
137. Havard Stem Cell Institute. 2014; Beschikbaar via: http://hsci.harvard.edu/.
138. Fox C. *Embryonic Stem Cells in Trial for Diabetes*. October 2014; Beschikbaar via: http://www.biosciencetechnology.com/articles/2014/10/embryonic-stem-cells-trial-diabetes.
139. ViaCyte. *ViaCyte, Inc. Announces FDA Acceptance of IND to Commence Clinical Trial of VC-01™ Candidate Cell Replacement Therapy for Type 1 Diabetes*. August 2014; Beschikbaar via: http://viacyte.com/press-releases/viacyte-inc-announces-fda-acceptance-of-ind-to-commence-clinical-trial-of-vc-01-candidate-cell-replacement-therapy-for-type-1-diabetes/.
140. BBC. *Parkinson's stem cell 'breakthrough'*. November 2014; Beschikbaar via: http://www.bbc.com/news/health-29935449.
141. Center Watch Clinical Trials. 2014; Beschikbaar via: http://www.centerwatch.com/clinical-trials/listings/.
142. Lunenfeld E. *Derivation of New Human Embryonic Stem Cell Lines: Identification of Instructive Factors for Germ Cells Development*. 2010; Beschikbaar via: http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01165918?term=embryonic+stem+cell&rank=7.
143. ZonMw. 2014; Beschikbaar via: http://www.zonmw.nl/nl/.
144. Santa Fe New Mexican. *Japan university starts study of new Parkinson's treatment*. February 2014; Beschikbaar via: http://www.santafenewmexican.com/news/health_and_science/japan-university-starts-study-of-new-parkinson-s-treatment/article_2a2b8989-c521-5fb0-9a90-f30ecb5bfabb.html.
145. International Society for Stem Cell Research (ISSCR), *12th Annual Meeting*. June 2014: Vancouver, Canada
146. Havardgazette. *New hope for treating ALS-Patient stem cells help identify common problem, leading to clinical trials*. April 2014; Beschikbaar via: http://news.harvard.edu/gazette/story/2014/04/new-hope-for-treating-als/.
147. Metro. *Baanbrekende nieuwe methode wil HIV oplossen door genen te bewerken*. Juni 2014; Beschikbaar via: http://nl.metrotime.be/2014/06/12/must-read/baanbrekende-nieuwe-methode-wil-hiv-oplossen-door-genen-te-bewerken/.
148. Synbio. *Embryonale stamcellen gemaakt (?)*. September 2014 Beschikbaar via: http://synbio.arnoschrauwers.nl/11/09/2014/embryonale-stamcellen-gemaakt/.
149. Qin H, et al., *Systematic Identification of Barriers to Human iPSC Generation.* Cell 2014. **158**(2): p. 449-461.
150. Bar-Nur O, et al., *Small molecules facilitate rapid and synchronous iPSC generation.* Nature Methods 2014.
151. Hubrecht Institute. May 2014; Beschikbaar via: http://www.hubrecht.eu/.
152. National Institutes of Health Clinical Center (CC). *Blood Collection From Healthy Volunteers and Patients for the Production of Clinical Grade Induced Pluripotent Stem Cell (iPSC) Products*. 2014; Beschikbaar via: http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02056613?term=embryonic+stem+cell&rank=18.
153. Center Watch Clinical Trials, *ALS TDI, Gladstone Institutes to discover potential ALS treatments.* December 2012.
154. European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), *Abstracts of the 30th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology.* Human Reproduction, 2014.
155. The London Women's Clinic. 2014; Beschikbaar via: http://www.londonwomensclinic.com/.
156. Vitrolife. 2011; Beschikbaar via: http://www.vitrolife.com/en/Fertility/Procedures/Vitrification/.
157. European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), *Abstracts of the 29th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology.* Human Reproduction, 2013. **28 (suppl 1)**.
158. RMA of Connecticut. *CCS | Comprehensive Chromosome Screening*. 2013; Beschikbaar via: http://www.rmact.com/getting-started/fertility-testing/ccs-comprehensive-chromosome-screening.
159. Pacific Fertility Center. *Comprehensive Chromosome Screening (CCS)*. 2014; Beschikbaar via: http://www.pacificfertilitycenter.com/treatment-care/comprehensive-chromosome-screening-ccs.
160. Boston Place Clinic. *PGD/PGS/CGH*. 2014; Beschikbaar via: http://www.bostonplaceclinic.co.uk/treatments-and-pricing/pgd-pgs-cgh.
161. Thermo Fischer Scientific. 2014; Beschikbaar via: http://news.thermofisher.com/press-release/life-technologies/thermo-fisher-scientific-announces-its-ion-pgm-dx-next-generation-se.

162. Life technologies. 2014; Beschikbaar via: http://www.lifetechnologies.com/search/global/searchAction.action?query=Next+generation+sequencing+&resultPage=1&resultsPerPage=15&autocomplete=.

Gebruikte bronnen verklarende woordenlijst

De verklarende woordenlijst is samengesteld met parate kennis van de onderzoekers en informatie uit de volgende bronnen:

Boek:

- Mummery C, Van der Stolpe A, Roelen B, Clevers H. Stem Cells. Scientific Facts and Fiction. Second Edition ed. 2014, Elsevier Eastborne, UK.

Websites:

- EuroStemCell (2014). Beschikbaar via: http://www.eurostemcell.org/.
- Havard Stem Cell Institute (2014). Beschikbar via: http://hsci.harvard.edu/.
- Human Fertlisation & Embryology Authority (HFEA) (2014). Beschikbaar via: http://www.hfea.gov.uk/index.html en http://www.hfea.gov.uk/glossary.html.
- International Society for Stem Cell Research (ISSCR). (2014). Beschikbaar via: http://www.isscr.org.
- Nederlandse Vereniging voor Hematologie (NVvH). (2014). Beschikbaar via: http://www.hematologienederland.nl/.
- Vereniging voor mensen met vruchtbaarheidsproblemen. (2014). Beschikbaar via: http://www.freya.nl/index.php.

BIJLAGE I Beschrijving werkwijze

Pallas voerde het onderzoek uit langs twee lijnen: 1. analyse van bestaande documentatie en 2. raadplegen van deskundigen in binnen- en buitenland. In deze bijlage wordt de werkwijze beschreven.

1. Analyse van bestaande documentatie

Voor het in kaart brengen van de huidige wetenschappelijke stand van zaken ten aanzien van ontwikkelingen die mogelijk leiden tot nieuwe therapie, diagnostiek, verbetering van bestaande technieken of behandelingen door onderzoek met embryo's en alternatieven voor het gebruik van embryo's, is informatie gezocht op verschillende websites, in wetenschappelijke literatuurdatabase Pubmed, conferentieabstracts en klinische trialregisters. Informatie is ook verzameld tijdens het International Stem Cell Forum 'Regenerative medicine and stem cells: translational challenges' van 18 november 2014 in Amsterdam. Tijdens het opstellen van de rapportage zijn tot en met 5 februari 2015 belangrijke recente ontwikkelingen nagegaan.

De tijdens de deskresearch gevonden informatie is beoordeeld op relevantie en in een tabellen samengevat. Het was niet de intentie een volledig overzicht te creëren van alle ontwikkelingen met betrekking tot embryo's of embryonale stamcellen. De tabellen zijn voorgelegd aan de geïnterviewde deskundigen en de ontwikkelingen zijn met de deskundigen besproken (zie deel 2 van deze bijlage).

Websites

Op verschillende in dit veld bekende websites is gezocht naar relevante informatie. Daarnaast is via Google gezocht naar overige relevante websites en naar relevante documenten. Dit is gedaan door te zoeken met relevante zoektermen, zoals 'embryo' of 'stamcel' (zie tabel, in het Nederlands en Engels). De eerste vier pagina's met zoekresultaten zijn bekeken. Onderstaande tabel geeft een overzicht van alle websites die zijn doorzocht, de datum waarop is gezocht en de daarbij gebruikte zoektermen per website.

Tabel Geraadpleegde websites

Naam	Website	Datum	Zoektermen
European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE)	http://www.eshre.eu	22.10.2014	Hele website is doorzocht
European Society of Human Genetics (ESHG)	https://www.eshg.org.	22.10.2014	Hele website is doorzocht
EuroStemCell	http://www.eurostemcell.org	21.10.2014	Hele website is doorzocht
Federale Commissie voor medisch en wetenschappelijk onderzoek op embryo's in vitro (FCE; België)	http://health.belgium.be/eportal/Healthcare/Consultativebodies/Commissions/Embryoinvitro/index.htm?fodnlang=nl	14.10.2014	Hele website is doorzocht
Gezondheidsraad	http://www.gezondheidsraad.nl/	23.10.2014	"embryonale stamcellen"; "IVF"; "embryo wet"
Google	www.google.com	07.11.2014	"embryonale stamcellen"; "hESC"; "geïnduceerde pluripotente stamcellen"; "iPS-cellen"; "in vitro maturatie"; "vitrificatie"; "cryopreservatie"; "pre-implantatie genetische diagnostiek"
Harvard Stem Cell Institute (HSCI), Verenigde Staten	http://hsci.harvard.edu/	24.10.2014	Hele website is doorzocht
Hubrecht Instituut	http://www.hubrecht.eu/	23.10.2014	Hele website is doorzocht
Human Fertlisation & Embryology Authority (HFEA), Verenigd Koninkrijk	www.hfea.gov.uk	23.10.2014	Hele website is doorzocht

International Society for Stem Cell Research (ISSCR)	http://www.isscr.org	13.10.2014	Hele website is doorzocht
International Stem Cell Forum	http://www.stem-cell-forum.net/	24.10.2014	Hele website is doorzocht
Ministerie van VWS	http://www.rijksoverheid.nl/ministeries/vws	23.10.2014	"embryonale stamcellen"; "IVF"; "embryo wet"
Netherlands Institute of Regenerative Medicine	www.nirm.nl	23.10.2014	Hele website is doorzocht
ZonMw	http://www.zonmw.nl/nl/	14.10.2014	Hele website is doorzocht

Wetenschappelijke literatuurdatabase PubMed

Het zoeken naar literatuur in PubMed was gericht op het vinden van recente sleutelartikelen. Het zoeken in PubMed is uitgevoerd na het zoeken via Google om dubbel werk te voorkomen.

Zoeklimieten

- Er is gezocht naar publicaties die verschenen zijn in de periode 1 januari 2012 tot en met 23 oktober 2014.
- Het zoeken is beperkt tot artikelen in toptijdschriften uit de betreffende vakgebieden:
    - Cell Stem Cell
    - Fertility and Sterility
    - Human Reproduction Update
    - Human Reproduction
    - Molecular Human Reproduction
    - Nature
    - Regenerative Medicine
    - Science
    - Stem Cells
    - The Journal of the American Medical Association (JAMA)
    - The Lancet
    - The New England Journal of Medicine (NEJM)

Zoekstrategie

Voor het zoeken in PubMed zijn zoekstrategieën opgesteld. Voor de volgende deelgebieden is een zoekstrategie gemaakt:

- <u>Transplantatiegeneeskunde:</u> ((Embryonic stem cell*[tiab]) AND (Regenerat*[tiab] OR therap*[tiab] OR treatment*[tiab])) NOT (Animals[Mesh] NOT (Humans[Mesh] AND Animals[Mesh]))
- <u>iPS-cellen:</u> ((Induced pluripotent stem cell*[tiab] OR iPSC[tiab]) AND (therap*[tiab] OR treatment*[tiab])) NOT (Animals[Mesh] NOT (Humans[Mesh] AND Animals[Mesh]))
- <u>Voortplantingsgeneeskunde – kunstmatige voortplantingstechnieken:</u> ((Embryonic stem cell*[tiab]) AND (IVF[tiab] OR in vitro fertilization[tiab] OR infertility[tiab] OR "assisted reproductive technology"[tiab] OR ART[tiab] OR "medically assisted reproduction"[tiab])) OR (((oocyte*[tiab] OR gameto*[tiab] OR germline[tiab] OR sperma*[tiab] OR germ cells[tiab] OR PGC[tiab]) AND (Embryonic stem cell*[tiab] OR ESC[tiab])) NOT (Animals[Mesh] NOT (Humans[Mesh] AND Animals[Mesh])))
- <u>Voortplantingsgeneeskunde - erfelijke/aangeboren aandoeningen:</u> ((Embryonic stem cell*[tiab]) AND (Preimplantation genetic diagnosis[tiab] OR PGD[tiab] OR Preimplantation genetic screening[tiab] OR PGS[tiab])) NOT (Animals[Mesh] NOT (Humans[Mesh] AND Animals[Mesh]))

Door het combineren van alle zoekstrategieën met 'OR' en met de zoeklimieten zijn in totaal 178 unieke artikelen gevonden, in bijzonder is in deze set artikelen naar reviewartikelen gezocht. Artikelen van wetenschappers die ter discussie staan vanwege wetenschapsfraude zijn buiten beschouwing gelaten.

De referentielijst is aangevuld met wetenschappelijke artikelen aangedragen door de geraadpleegde deskundigen. Daarnaast is er gezocht naar recente sleutelartikelen om uitspraken van deskundigen te kunnen onderbouwen.

Conferentieabstracts

Om de recentste ontwikkelingen in kaart te brengen is ook gezocht naar ontwikkelingen/klinische toepassingen in abstracts van relevante congressen in de periode 2012 – 2014 [zoekdatum: 6.11.2014]. Via de volgende websites is naar deze abstracts gezocht:

- International Society for Stem Cell Research (ISSCR): http://www.isscr.org
- EuroStemCell: http://www.eurostemcell.org
- European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE): http://www.eshre.eu
- European Society of Human Genetics (ESHG): https://www.eshg.org

Er zijn drie relevante conferenties gevonden waarvan vervolgens de abstracts zijn doorzocht op ontwikkelingen/klinische toepassingen:

- Abstracts of the 29th Annual Meeting of the ESHRE (2013) [157]
- Abstracts of the 30th Annual Meeting of the ESHRE (2014) [154]
- Poster Abstracts of the 12th Annual Meeting of the ISSCR (2014) [145]

Klinische trialregisters

Op 31.10.2014 is met de volgende termen: “embryonic stem cell”, “hESC”, “induced pluripotent stem cell”, and “iPSC” naar (lopende) klinische studies gezocht in de volgende trialregisters:

- www.clinicaltrials.gov
- www.clinicaltrialsregister.eu
- www.controlled-trials.com
- www.centerwatch.com/clinical-trials/listings/

Andere bronnen

Ontwikkelingen die buiten de zoekstrategie, via websites, PubMed, conferentieabstracts en klinische trialregisters zijn gevonden, zoals recente nieuwsberichten.

International Stem Cell Forum Symposium

Uit bovenstaande analyse bleek dat tijdens de onderzoeksperiode het International Stem Cell Forum ‘Regenerative medicine and stem cells: translational challenges’ plaatsvond (Amsterdam,18.11.2014). Tijdens het symposium ging het over het state-of-the-art stamcelonderzoek en de vertaling naar klinische toepassingen: stamcellen en regeneratie in verschillende orgaansystemen, pluripotente stamcellen, experimentele therapieën en ethische en regulatoire aspecten van de regeneratieve geneeskunde. Om aanvullende informatie te verzamelen is deelgenomen aan het Stem Cell Forum.

2. Raadplegen van deskundigen in binnen- en buitenland

Pallas heeft met buitenlandse en Nederlandse deskundigen individuele interviews gehouden. Om een goede vertegenwoordiging van alle betrokken groepen en relevante deskundigheid te realiseren, zijn deskundigen geselecteerd vanuit fundamenteel onderzoek en patiëntenzorg, op het gebied van de transplantatiegeneeskunde en de voortplantingsgeneeskunde.
De gesprekken met buitenlandse deskundigen zijn gehouden om inzicht te krijgen in de mogelijkheden die al dan niet in andere landen aanwezig zijn (Spanje, Zweden en Verenigde Staten) en welke gevolgen dat heeft voor het onderzoek in deze landen.

Werkwijze individuele interviews

Voor het houden van de individuele interviews zijn de volgende activiteiten uitgevoerd:

- Identificatie personen voor interviews en plannen interviews;
- Opstellen vraagstellingen;
- Afnemen interviews;
- Analyseren en verslaglegging.

Identificatie personen voor interviews en plannen interviews

Tijdens de analyse van bestaande documentatie (werkwijze deel 1) zijn namen van buitenlandse en Nederlandse deskundigen geïdentificeerd; hiervoor is op bekende websites gezocht zoals van de HFEA en via Google op bepaalde vakgebieden (Voortplantingsgeneeskunde/Transplantatiegeneeskunde),

afdelingen van universiteiten waarvan bekend is dat er onderzoek plaatsvindt in de relevante vakgebieden en farmaceutische of biomedische en biotechologische bedrijven.

In totaal zijn zes buitenlandse deskundigen via email uitgenodigd voor deelname aan het onderzoek; uit drie verschillende gebieden (transplantatiegeneeskunde, voortplantingsgeneeskunde, bedrijfsleven). Uiteindelijk zijn vier deskundigen uit het buitenland geïnterviewd. Uit Nederland zijn elf deskundigen uitgenodigd aan het onderzoek deel te nemen (transplantatiegeneeskunde, voortplantingsgeneeskunde-erfelijke/aangeboren aandoeningen). Van deze uitgenodigde deskundigen zijn er uiteindelijk acht geïnterviewd. Een lijst van alle buitenlandse en Nederlandse geïnterviewde deskundigen is te vinden in Bijlage II.

Opstellen vraagstellingen
De interviews zijn semigestructureerd afgenomen. Vooraf ontvingen de deskundigen een topiclijst en een aantal vragen. Tijdens de interviews was er ruimte voor verdiepende of aanvullende vragen als het interview daartoe aanleiding gaf. Een aantal standaardvragen is aan alle deskundigen gesteld, zoals welke technieken veelbelovend lijken en of het betreffende onderzoek kan plaatsvinden zonder gebruik te maken van speciaal gekweekte embryo's. De andere vragen van het interview waren afhankelijk van het vakgebied van de deskundigen.

Afname interviews
De interviews zijn telefonisch afgenomen en duurden maximaal een uur. Ter ondersteuning van de verslaglegging zijn audio-opnamen gemaakt, hiervoor is toestemming gevraagd aan de geïnterviewden voorafgaande het interview.

Analyse interviews
Elk interview is verwerkt tot een samenvattend verslag met de hoofdpunten van het gesprek. De uitwerkingen zijn ter verifiëring op feitelijke juistheid aan de gesprekspartners voorgelegd en waar nodig op hun aanwijzing bijgesteld.

3. Rapportage

Informatie verzameld tijdens de deskresearch is samengevat in vier overzichtstabellen:

- Therapieën en technieken gebaseerd op hESC;
- Therapieën en technieken gebaseerd op iPSC;
- Voortplantingsgeneeskunde – kunstmatige voortplantingstechnieken;
- Voortplantingsgeneeskunde – voorkomen van erfelijke/aangeboren aandoeningen.

Bij het schrijven van de rapportage is de informatie uit de deskresearch en uit de interviews met deskundigen in samenhang met elkaar beschreven.

4. Tijdspad van het onderzoek

Het onderzoek vond plaats van oktober 2014 tot en met februari 2015.

Tabel Tijdspad

Maand	Onderzoek
Oktober 2014	Selectie en uitnodigen deskundigen Analyse van bestaande documenten
November 2014	Analyse van bestaande documenten Individuele interviews Conceptrapportage
December 2014	Individuele interviews Conceptrapportage
Januari-februari 2015	Eindrapportage

BIJLAGE II Geraadpleegde deskundigen

1. Deskundigen uit het buitenland

Transplantatiegeneeskunde

Naam	Functie
Claudia Rizzini, PhD	Program Director at Harvard's Stem Cell Institute, VS.
William Lensch, PhD	Executive Director of Harvard University's Department of Stem Cell and Regenerative Biology (HSCRB) and Faculty Director of Education at the Harvard Stem Cell Institute, VS.

Voortplantingsgeneeskunde

Naam	Functie
Prof. Outi Hovatta	Professor in Obstetrics and Gynaecology, especially Assisted Conception, Department for clinical science, intervention and technology, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden.
Rita Vassena PhD	Research Associate, Stem Cell Bank, Center of Regenerative Medicine (CMR) in Barcelona and Coordinator Stem Cells Group, European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE)

2. Deskundigen uit Nederland

Transplantatiegeneeskunde

Naam	Functie
Prof. Niels Geijsen	Hoogleraar Regeneratieve Geneeskunde, Hubrecht Instituut.
Prof. Joost Gribnau	Hoogleraar epigenetica, board member Erasmus MC Stem cell and Regenerative Medicine Institute (ESRI).
Prof. Christine Mummery	Hoogleraar Ontwikkelingsbiologie en Hoofd van de afdeling Anatomie en Embryologie, LUMC.
Prof. Gert Jan Veenstra	Hoogleraar en hoofd van de afdeling Molecular Developmental Biology, Institute for Molecular Life Sciences, Radboud UMC; Principal Investigator of the Radboud Institute of Molecular Life Sciences (RIMLS, voorheen NCMLS, Onderzoekschool.
Prof. Marianne Verhaar	Hoogleraar Experimentele Nefrologie, Department of Nephrology and Hypertension UMC Utrecht.

Voortplantingsgeneeskunde, erfelijke/aangeboren aandoeningen

Naam	Functie
Prof. Christine de Die	Hoogleraar Preïmplantatie Genetische Diagnostiek, Maastricht UMC+; Klinisch geneticus bij de afdeling Klinische Genetica.
Prof. Jolande Land	Hoogleraar Voortplantingsgeneeskunde, UMCG; Hoofd onderafdeling Voortplantingsgeneeskunde.
Prof. Sjoerd Repping	Hoogleraar UvA / Hoofd Laboratorium voor Voortplantingsbiologie; Hoogleraar Humane Voortplantingsbiologie, AMC.

Gebruikte afkortingen

A1ATD – α1-antitrypsinetekort
ACT – Advanced Cell Technology;
BBC: British Broadcasting Corporation, VK
ADRC – Alzheimer's Disease Research Center, VS
ALS – Amyotrofische Laterale Sclerose
ART – geassisteerde reproductietechnologieën
AST-VAC2 – niet-patiënt-specifiek (allogeen) kankervaccin
AUT – Oostenrijk
BE – België
BoBs – Bacterial artificial chromosomes (BACs)-on-Beads
Ca – Calcium
CCS – Comprehensive Chromosome Screening
CGH – Comparative Genomic Hybridisation
COPD – Chronische obstructieve longziekte
DE – Duitsland
DM1 – myotone dystrofie
DNA – Desoxyribonucleïnezuur
EBISC – European Bank for Induced pluripotent Stem Cells
EL – extracellulaire lichamen
EMBL – European Molecular Biology Laboratory
ESC – embryonale stamcellen
ESHRE – European Society of Human Reproduction and Embryology
FCE – Federale Commissie voor medisch en wetenschappelijk onderzoek op Embryo's in vitro, BE
FDA – Food and Drug Administration, VS
FISH – fluorescentie in situ hybridisatie
GRNOPC1 – hESC-afgeleide oligodendrocyt voorlopercellen
hESC – humane embryonale stamcellen
hESC CD15+ Isl-1+Progenitors – 'cardiac-committed' voorlopercellen (progenitors) afkomstig van hESC
HFEA – Human Fertilisation & Embryology Authority, VK
HIV – humaan immunodeficiëntievirus
HON – Hart Onderzoek Nederland
HSCI – Havard Stem Cell Institute, VS
ICSI – Intra Cytoplasmatische Sperma Injectie
iPSC – geinduceerde pluripotente stamcellen
IR – insulinereceptor
ISSCR – International Society of Stem Cell Research
IVF – In Vitro Fertilisatie
IVM – In Vitro Maturatie
JP – Japan
KLEM – Vereniging voor Klinische Embryologie
LUMC – Leids Universitair Medisch Centrum
MAB – Mesoangloblasten
MA09-hRPE – sub-retinale transplantatie met Retinal Pigmented Epithelial-cellen afkomstig van hESC
MESA – microchirurgische epididymale sperma-aspiratie
MST – Maternal Spindle Transfer

mtDNA – mitochondriaal DNA
NGS – Next-Generation Sequencing
NK – tumor targeted Natural Killer cells
NL – Nederland
NVOG – Nederlandse Vereniging voor Obstetrie en Gynaecologie
PBT –Ppolar Body Transfer
PCR – Polymerase Chain Reaction
PESA – percutane epididymale sperma-aspiratie
Pf-05206388 – een membraan met van hESC afkomstig Retinal Pigment Epithelium living tissue equivalent
PGD – pre-implantatie genetische diagnostiek
PGS – pre-implantatie genetisch screening
PNT – Pro-Nuclear Transfer
PTEN – tumorsuppressie-gen
qPCR – kwantitatieve polymerasekettingreactie
RCT – gerandomiseerde klinische trial
RPE – retinaal pigmentepitheel cellen
RVO.nl – Rijkdienst voor Ondernemend Nederland
SCAAC – Scientific and Clinical Advances Advisory Committee, VK
SCNT – Somatic Cell Nuclear Transfer
TECS – Tilting Embryo Culture System
TESE – testiculaire sperma-extractie
UCI MIND – Institute for Memory Impairments and Neurological Disorders at the University of California, VS
UCL – University College London, VK
VK – Verenigd Koninkrijk
VS – Verenigde Staten